



Processen en factoren die van invloed zijn op de emissie van bio-aerosolen uit stallen

A.J.A. Aarnink, Y. Zhao, A. Dekker en N.W.M. Ogink



LIVESTOCK RESEARCH
WAGENINGEN **UR**

Processen en factoren die van invloed zijn op de emissie van bio-aerosolen uit stallen

A.J.A. Aarnink¹

Y. Zhao¹

A. Dekker²

N.W.M. Ogink¹

1 Wageningen UR Livestock Research

2 Centraal Veterinair Instituut

Dit onderzoek is uitgevoerd door Wageningen UR Livestock Research, in opdracht van en gefinancierd door het Ministerie van Economische Zaken, in het kader van het Beleidsondersteunend onderzoek thema Bio-aerosolen (BO-12.12-004-005)

Wageningen UR Livestock Research

Wageningen, april 2015

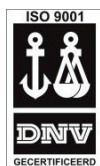
Livestock Research Rapport 829

Aarnink, A.J.A., Y. Zhao, A. Dekker, N.W.M. Ogink, 2015. Processen en factoren die van invloed zijn op de emissie van *bio-aerosolen uit stallen*. Wageningen UR (University & Research centre) Livestock Research, Livestock Research Rapport 829.

© 2015 Wageningen UR Livestock Research, Postbus 338, 6700 AH Wageningen, T 0317 48 39 53, E info.livestockresearch@wur.nl, www.wageningenUR.nl/livestockresearch. Livestock Research is onderdeel van Wageningen UR (University & Research centre).

Livestock Research aanvaardt geen aansprakelijkheid voor eventuele schade voortvloeiend uit het gebruik van de resultaten van dit onderzoek of de toepassing van de adviezen.

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden vermenigvuldigd en/of openbaar gemaakt worden door middel van druk, fotokopie, microfilm of op welke wijze dan ook zonder voorafgaande toestemming van de uitgever of auteur.



De certificering volgens ISO 9001 door DNV onderstreept ons kwaliteitsniveau. Op als onze onderzoeksopdrachten zijn de Algemene Voorwaarden van de Animal Sciences Group van toepassing. Deze zijn gedeponereerd bij de Arrondissementsrechtbank Zwolle.

Inhoud

Woord vooraf	5
Samenvatting	7
Summary	9
1 Inleiding	11
2 Ziektekiemen en stof in stallucht	13
2.1 Rol van bio-aerosolen bij verspreiding van ziektekiemen	13
2.2 Bronnen van ziektekiemen in stallucht	13
2.3 Bronnen van stof in stallucht	15
2.4 Kiemen die via de lucht worden verspreid	15
2.5 Verdeling van micro-organismen over verschillende stoffracties	15
3 Processen en factoren die concentratie en emissie van ziektekiemen beïnvloeden	18
3.1 Processen en factoren van invloed op concentratie micro-organismen en stof	18
3.1.1 Invloed van het dier	19
3.1.2 Huisvestingssysteem	19
3.1.3 Management	19
3.1.4 Omgevingsfactoren	20
3.2 Processen en factoren van invloed op overleving van micro-organismen in lucht	21
3.2.1 Fysische verwijdering	21
3.2.2 Biologische afbraak	21
3.3 Samenvatting van processen en factoren die aerogene transmissie van ziektekiemen beïnvloeden	23
4 Discussie	25
4.1 MRSA problematiek	25
4.2 Q-koorts problematiek	25
4.3 Verspreiding van ziektekiemen via de lucht	26
5 Conclusies en aanbevelingen	28
5.1 Conclusies	28
5.2 Aanbevelingen	29
Literatuur	30

Woord vooraf

Nederland heeft verschillende regio's met zeer hoge concentraties landbouwhuisdieren. In de loop der jaren is ook de schaalvergroting sterk toegenomen. Vooral de schaalvergroting is in toenemende mate op gespannen voet komen te staan met het lokale draagvlak voor dit soort bedrijven en met datgene wat wenselijk is vanuit het perspectief van ruimtelijke ordening, milieu en landschappelijke inpassing. In een aantal gebieden is sprake van publieke onrust over de effecten van de vestiging van grote bedrijven op de gezondheid van omwonenden en de leefkwaliteit. Deze onrust heeft zich in het bijzonder uitgekristalliseerd in de discussie rond een aantal zogenoemde megastal-initiatieven, met geplande bedrijfsgroottes die de gemiddelde omvang ruim overtreffen. Alhoewel er nog weinig harde gegevens bekend zijn, is er publieke zorg over de effecten van grote aantallen dieren op veehouderijbedrijven op de gezondheid. Dit betreft vooral de potentiële risico's van de uitstoot van fijnstof en mogelijk daaraan gebonden ziektekiemen. Hierbij worden verbanden gelegd met de MRSA-problematiek en de toename van Q-koorts (N.B. sinds de verplichte vaccinatie zijn de gevallen van Q-koorts sterk afgenomen). Veel essentiële informatie voor een goede beoordeling van risiconiveaus en risicobeheersing ontbreekt echter. Het is van belang inzicht te krijgen in de eventuele effecten van (grootschalige) veehouderij op de gezondheid van omwonenden, en de mogelijkheden om deze effecten terug te dringen. Kennis van de uitstoot van (stofgebonden) kiemen uit stalgebouwen speelt hierbij een fundamentele rol. Vanuit deze basiskennis kunnen maatregelen worden ontwikkeld om de omgevingsrisico's te verlagen.

In opdracht van het ministerie van Economische Zaken is het voorliggende rapport uitgewerkt. Het rapport beoogt de processen en factoren te beschrijven die van invloed zijn op het in de lucht komen en de emissie van (stofgebonden) kiemen. Op basis van dit rapport kan meer gericht onderzoek worden uitgezet om de emissie van ziektekiemen uit stallen te voorkomen of te beperken. Het rapport is samengesteld door medewerkers van Livestock Research en van het Centraal Veterinair Instituut. Een belangrijk deel van de hier samengebrachte informatie is gebaseerd op een literatuuronderzoek dat door de PhD-student Yang Zhao in het kader van zijn onderzoek naar micro-organismen in de lucht en de relatie met stof is uitgevoerd, waarvoor bijzondere dank.

Nico Ogink
Programmacoördinator
Wageningen UR Livestock Research

Samenvatting

Nederland bevat een aantal regio's met zeer hoge dichtheden van landbouwhuisdieren. Vanaf de jaren zestig van de vorige eeuw heeft er een sterke groei plaatsgevonden in de zogenoemde intensieve veehouderij, in met name het Zuiden en Oosten van Nederland. In de loop der jaren is de voortdurende schaalvergroting in toenemende mate op gespannen voet komen te staan met de wensen en eisen ten aanzien van ruimtelijke ordening, milieu en landschappelijke inpassing. In veel regio's, en dat beperkt zich niet alleen tot de regio's met hoge veedichtheden, is sprake van publieke onrust over de effecten van de vestiging van grote bedrijven op de gezondheid van omwonenden en op de leefkwaliteit.

De publieke zorg over de volksgezondheid betreft vooral de uitstoot van bio-aerosolen. Bio-aerosolen zijn (stof)deeltjes in de lucht die een biologische oorsprong hebben. Voor stof dat emitteert uit stallen is dat voor het merendeel het geval. De belangrijkste bronnen van stof in stallen zijn namelijk de mest, de dieren zelf (huidschilfers, veren), voer en strooisel. Bio-aerosolen kunnen levende micro-organismen bevatten, zoals bacteriën, schimmels en virussen. Sommige micro-organismen afkomstig van dieren kunnen mensen ziek maken (zoönosen). Dit is recent vooral actueel geworden vanwege de Q-koorts problematiek. Daarnaast is er ook ongerustheid over de overdracht van antibiotica-resistente bacteriën van dier naar mens (MRSA-bacterie, ESBL's producerende bacteriën). Ook bio-aerosolen die geen levende micro-organismen bevatten kunnen schadelijk zijn voor de mens, vooral wanneer deze bio-aerosolen componenten bevatten die afkomstig zijn van micro-organismen zoals endotoxine.

De vorming en emissie van bio-aerosolen is een multi-factorieel proces. Het doel van deze deskstudie was om de processen en factoren te beschrijven die van invloed zijn op de vorming en emissie van bio-aerosolen. Op basis van dit rapport kan meer gericht onderzoek worden uitgezet om de emissie van bio-aerosolen (met ziektekiemen) uit stallen te voorkomen of te beperken.

Bio-aerosolen zijn vooral afkomstig van de dieren zelf (feces, urine, niezen/hoesten, ademhaling, huidschilfers, andere dierlijke (uitscheidings)producten zoals eieren, melk, nageboorte), maar kunnen ook afkomstig zijn van voer, strooisel, de veehouder of de omgevingslucht. Bio-aerosolen kunnen vochtdeeltjes zijn of stofdeeltjes. Vochtige deeltjes worden in het algemeen rechtstreeks vanuit de luchtwegen, via niezen, hoesten of ademhaling, in de lucht gebracht. Aangezien dit kleine druppeltjes zijn ($<100\text{ }\mu\text{m}$) zullen deze snel indampen, waardoor de daarin aanwezige kiemen direct bloot komen te staan aan omgevingsfactoren (temperatuur, luchtvochtigheid, zonnestraling, zuurstof). Kiemen die ingesloten zijn in stofdeeltjes kunnen in meer of mindere mate beschermd zijn tegen externe invloeden. (Zieke) dieren zijn de belangrijkste bron van infectieuze bio-aerosolen. Eénmaal opgenomen in de lucht, kunnen veel virussen en bacteriën gedurende enkele, of zelfs meerdere, minuten in de lucht overleven. Hierbij geldt dat virussen in het algemeen minder gevoelig zijn voor afbraak in de lucht dan bacteriën. Tijdens het proces van opname van bio-aerosolen in de lucht, via verstoffen van b.v. fecesdeeltjes of het in de lucht komen van kleine vochtige deeltjes die snel verdampen, kunnen veel virussen en bacteriën afsterven.

Bio-aerosolen kunnen met de luchtstroom worden meegevoerd naar buiten of weer neerslaan op oppervlakken. Bio-aerosolen die met de ventilatielucht naar buiten worden geblazen kunnen afhankelijk van o.a. hun grootte, de uitwerpsnelheid en de meteorologische en geografische omstandigheden meer of minder ver worden meegevoerd met de luchtstroom. Afhankelijk van de levensvatbaarheid (halfwaardetijd) van een bepaald ziektekiem, onder de betreffende omstandigheden, kan deze zijn infectiekracht gedurende kortere of langere tijd behouden.

De verdeling van micro-organismen over de verschillende groottes van de bio-aerosolen is belangrijk, aangezien de grootte van de bio-aerosolen mede bepaalt hoever het deeltje wordt verspreid vanaf het bronbedrijf en of de bio-aerosol ingeademd of anderszins opgenomen kan worden door omwonenden. Hoe kleiner de deeltjes des te langer ze in de lucht blijven zweven. In het algemeen geldt ook dat

kleinere deeltjes een grotere impact op de longen hebben dan grotere deeltjes, vooral doordat ze dieper in de longen doordringen. Uit resultaten van een aantal onderzoeken blijkt dat bacteriën en waarschijnlijk ook andere micro-organismen zich vrij evenredig (op basis van massa) over de verschillende grootteklassen verdelen.

Op basis van deze literatuurstudie kunnen de volgende conclusies worden getrokken betreffende de vorming van bio-aerosolen waaraan ziektekiemen kunnen zijn gekoppeld:

- Bio-aerosolen zijn kleine druppeltjes of stofdeeltjes die in de lucht zweven. Bio-aerosolen kunnen micro-organismen, waaronder ziektekiemen, bevatten. De vochtige bio-aerosolen komen vooral rechtstreeks in de lucht vanuit de luchtwegen, via niezen, hoesten en/of ademhaling. De droge bio-aerosolen ontstaan door stofvorming vooral van mestdeeltjes, huidschilfers, andere (uitscheidings)producten van de dieren, voer en strooisel.
- Factoren die de stofconcentratie in de stal beïnvloeden zijn vaak ook van invloed op de concentratie (ziekte)kiemen in de stallucht. De concentratie (levensvatbare) kiemen wordt echter niet alleen door fysische factoren, maar tevens door biologische factoren, zoals het al dan niet aanwezig zijn van een infectieziekte, beïnvloed.
- *Staphylococci* en *Streptococci* zijn de meest voorkomende gram-positieve bacteriën in de lucht. De MRSA-bacterie, een bepaald sub-type van de *Staphylococcus aureus*, komt veel voor in stofdeeltjes, vooral in stallen met varkens en vleeskalveren. In hoeverre transmissie via de lucht bijdraagt aan de besmetting van MRSA bij mens en dier is nog onduidelijk. Uit onderzoek is wel gebleken dat de kans op besmetting toeneemt bij een intensiever contact (in tijd en/of via aanraking) tussen mens en dier.
- Het effect van klimaat (temperatuur en relatieve luchtvochtigheid) op de overleving van (ziekte)kiemen in de lucht is afhankelijk van de soort kiem en is daarom niet in algemene zin aan te geven. Vooral bacteriën zijn gevoelig voor luchtvochtigheid en elke soort heeft zijn eigen optimale waarde. Voor temperatuur kan in het algemeen worden gesteld dat hoe hoger de temperatuur des te sneller micro-organismen afsterven in de lucht.

Op basis van deze literatuurstudie kunnen de volgende conclusies worden getrokken en aanbevelingen worden geformuleerd betreffende de emissie van ziektekiemen via bio-aerosolen:

- Emissie van ziektekiemen uit stallen is mogelijk, want veel virussen en bacteriën kunnen, als ze het proces van aerosolvorming hebben overleefd, gedurende enkele of meerdere minuten in de lucht overleven.
- De volgende aanbevelingen zijn van belang om meer inzicht te verkrijgen in de rol van bio-aerosolen bij de overdracht van ziektekiemen:
 - Inzicht is nodig in de relatie tussen enerzijds het soort deeltje (deeltjesgrootte, bron) waaraan een bepaalde kiem is gehecht of waarin de kiem is ingekapseld en klimatologische omstandigheden (temperatuur, luchtvochtigheid, UV-straling) en anderzijds de overlevingskans (halfwaardetijd) van de betreffende ziektekiem.
 - Wat is de bijdrage van bio-aerosolen aan de overdracht van specifieke ziektekiemen van dier op dier en/of van dier op mens. Voor een aantal ziektekiemen zijn er sterke aanwijzingen dat de verspreiding via de lucht belangrijk is (o.a. *Coxiella burnetii* de veroorzaker van Q-koorts en het PRRS-virus, veroorzaker van een belangrijke varkensziekte).
 - Voor ontwikkelen van maatregelen om de overdracht van ziektekiemen via de lucht te voorkomen of te beperken is inzicht nodig in de relatie tussen kiemconcentraties in de lucht en de kans op infectie.

Deze studie geeft aan dat er nog betrekkelijk weinig kennis aanwezig is over de processen die optreden bij de overdracht van ziekten via de lucht. Deze kennis is wel nodig om de impact van deze infectieroute in de Nederlandse veehouderij goed in te kunnen schatten en om zonodig maatregelen te nemen om de uitstoot van bio-aerosolen te beperken.

SUMMARY

In the Netherlands there are some regions with very high animal densities. From the sixties in the last century intensive livestock production has expanded largely, especially in the South and East of the Netherlands. Pig and poultry farms were able to expand because of the import of animal feed from all over the world. The increasing scale of production is at odds with requirements on spatial planning, environment, and landscape. At present, regional reconstruction plans are executed. During elaboration of the plans within the agricultural development areas, people living in the vicinity are alarmed by possible effects of large scale livestock production on their health and their quality of life.

Societal concern about public health is mainly related to the emission of so-called bio-aerosols. Bio-aerosols are (dust) particles in the air with a biological origin. Most dust emitted from animal houses is of biological origin. The main sources of dust in animal houses are manure, the animals themselves (skin particles, feeders), feed and bedding material. Bio-aerosols may include living micro-organisms, like bacteria, fungi, and viruses. Some micro-organisms originating from animals may cause a disease in human (zoonosis). Recently this was very actual because of the Q-fever problems. Furthermore, there is also concern about the transmission of antibiotic resistant bacteria from animal to human (MRSA bacteria, ESBL producing bacteria). Also bio-aerosols that do not contain viable micro-organisms can have health effects on human, especially when these bio-aerosols contain components originating from micro-organisms like endotoxins.

The formation and emission of bio-aerosols is a multi-factorial process. The objective of this desk study was to describe the processes and factors that influences the formation and emission of bio-aerosols. Based on this report priority and support can be given to those studies that help to prevent emission of pathogens from animal houses.

Bio-aerosols mainly originate from the animals themselves (faeces, urine, sneezing/coughing, respiration, skin particles, other animal (excretion) products like eggs, milk, and placenta), but may also originate from feed, bedding material, farmer, or from the incoming air. Bio-aerosols can be wet particles or dust particles. Generally, wet aerosols are directly dispersed in the air by sneezing, coughing or respiration. Because these droplets are very small (<100 µm), they will evaporate very fast. After evaporation only the naked bacteria or viruses are left; these can be individual or clusters of micro-organisms. These micro-organisms are exposed to environmental factors (T, RH, UV, O₂) to a greater extent than micro-organisms that are enclosed in dust particles. (Sick) animals are the main source of infectious bio-aerosols. A lot of viruses and bacteria survive well during a few, or even several, minutes in the air. Generally, viruses are less susceptible for demolition than bacteria. During the stressful process of aerosolization of bio-aerosols, e.g. during the dust formation process or when water in wet aerosols are quickly evaporated, a lot of viruses and bacteria can die.

Dust and micro-organisms can be carried with the airstream to the outside air or sediment on surfaces. Emitted bio-aerosols are carried by the airstream over shorter or longer distances depending on e.g. their size, the exhaust airspeed, and the meteorological and geographical circumstances. Depending on the viability (half life time) of a certain pathogen under the given circumstances, it can keep its infectivity during a shorter or longer period.

The distribution of micro-organisms over the different particle sizes of the bio-aerosols is important, because this largely determines the travel distance of the particle from the source farm and whether this particle will be inhaled or otherwise taken in by humans living in the vicinity of the farm. Generally, the smaller the particles the longer they stay in the air. Smaller particles, generally, also have a larger impact on respiratory problems than larger particles, especially because they penetrate deeper in the lungs. From results of some studies it may be concluded that bacteria, and probably also other micro-organisms, are divided proportionally (based on mass) over the different particle size classes.

Based on this desk study the following conclusions can be drawn with respect to the formation of bio-aerosols, which could include pathogens:

- Bio-aerosols originate from small wet or dry particles. Bio-aerosols could contain micro-organisms, including pathogens. Wet bio-aerosols mainly originate from the respiratory system, by sneezing, coughing and/or respiration. Dry bio-aerosols mainly originate from manure particles, skin particles, other (excretion) products of the animals, feed, and bedding material.
- Factors that influence dust concentration within animal houses generally also influence concentrations of micro-organisms. The concentration of (viable) micro-organisms, however, is not only determined by physical factors but also by biological factors, like the presence of an infectious disease.
- *Staphylococcus* and *Streptococcus* are the most common gram-positive bacteria in the air. The MRSA bacteria, a certain sub-type of the *Staphylococcus aureus*, is often present in dust particles, especially in houses for pigs and veal calves. To what extent transmission by the air contributes to infections is unknown yet, although it is known that the incidence of infection increases with more intense contact (in time and/or by physical contact) between human and animal (and its environment).
- The effect of climate (T, RH) on survival of micro-organisms in the air is depending on the type of micro-organism and cannot be given in general terms. Bacteria are especially sensible for RH and each species has its own optimal value. Generally, for temperature it can be stated that the higher the temperature the shorter micro-organisms will survive in the air.

Based on this desk study the following conclusions can be drawn with respect to the emission of bio-aerosols, which could include pathogens:

- Emission of pathogens from livestock houses is possible, because a lot of viruses and bacteria can, when they survived the aerosol formation, survive during a few or several minutes in the air.
- The following aspects are of relevance to obtain more insight in the role of bio-aerosols in the transmission of diseases:
 - Insight is needed in the relation between on one hand the kind of particle (particle size, source) to which the micro-organism is attached or included and climate conditions (temperature, RH, UV-radiation) and on the other hand the survival rate and survival time (half life time) of pathogens.
 - What is the contribution of bio-aerosols to the transmission of specific diseases from animal to animal and/or from animal to human. For a number of diseases there are strong indications that the airborne route is important (e.g. Q-fever and PRRS).
 - For developing reduction strategies for airborne transmission of pathogens knowledge is needed on the relationship between airborne pathogen concentrations and infection risk.

This study shows that little knowledge is available yet of the processes that are involved in airborne transmission of diseases. This is necessary to determine the impact of this infection route in Dutch livestock production and, when necessary, to implement measures to reduce emission of bio-aerosols.

1 Inleiding

Nederland bevat een aantal regio's met voor Europese begrippen zeer hoge dichtheden van landbouwhuisdieren. Vanaf de jaren zestig van de vorige eeuw heeft er een sterke groei plaatsgevonden in de zogenoemde intensieve veehouderij, in met name het Zuiden en Oosten van Nederland. De omvang van bedrijven in de varkens- en pluimveehouderij kon mede sterk toenemen door het niet-grondgebonden karakter van deze productievorm en de aanvoer van veevoer van elders. In de loop der jaren is de voortdurende schaalvergroting in toenemende mate op gespannen voet komen te staan met de wensen en eisen ten aanzien van ruimtelijke ordening, milieu en landschappelijke inpassing. In veel regio's, en dat beperkt zich niet alleen tot de regio's met hoge veedichtheden, is sprake van publieke onrust over de effecten van de vestiging van grote bedrijven op de gezondheid van omwonenden en op de leefkwaliteit. Deze onrust heeft zich in het bijzonder uitgekristalliseerd in de discussie rond een aantal zogenoemde megastal-initiatieven, met geplande bedrijfsgroottes die de gangbare omvang ruim overtreffen. De publieke zorg over de volksgezondheid betreft vooral de uitstoot van bio-aerosolen. Bio-aerosolen zijn (stof)deeltjes in de lucht die een biologische oorsprong hebben. Voor stof dat emitteert uit stallen is dat voor het merendeel het geval. De belangrijkste bronnen van stof in stallen zijn namelijk de mest, de dieren zelf (huidschilfers, veren), voer en strooisel (Cambra-Lopez et al., 2010). Bio-aerosolen kunnen levende micro-organismen bevatten, zoals bacteriën, schimmels en virussen. Sommige micro-organismen afkomstig van dieren kunnen mensen ziek maken (zoönosen). Dit is recent vooral actueel geworden vanwege de Q-koorts problematiek. Daarnaast is er ook ongerustheid over de overdracht van antibiotica-resistente bacteriën van dier naar mens (MRSA-bacterie, ESBL's producerende bacteriën). Ook bio-aerosolen die geen levende micro-organismen bevatten, kunnen schadelijk zijn voor de mens, vooral wanneer deze bio-aerosolen componenten bevatten die afkomstig zijn van micro-organismen zoals endotoxine.

In 2011 is een inventariserend onderzoek afgerond naar de mogelijke relatie tussen de nabijheid van intensieve veehouderijbedrijven en de gezondheid van omwonenden (Heederik and IJzermans, 2011). Uit dit onderzoek kwam naar voren dat omwonenden van intensieve veehouderijbedrijven een relatief hogere blootstelling hebben aan micro-organismen en endotoxinen. Er werden echter weinig verschillen gevonden in gezondheid van omwonenden van intensieve veehouderijbedrijven en gezondheid van een plattelandsbevolking elders in het land. Longontsteking kwam echter iets meer voor in de nabijheid van intensieve veehouderij en was sterk verhoogd bij omwonenden van bedrijven met geiten en pluimvee. In een recente studie concluderen Maassen et al. (2012) dat er geen wetenschappelijk onderbouwde uitspraken gedaan kunnen worden over een mogelijk verhoogd risico voor omwonenden van veehouderijbedrijven voor het oplopen van een zoönose. Een uitzondering hierop is het risico voor besmetting met de Q-koorts bacterie in de omgeving van geitenbedrijven. Ook de Gezondheidsraad (2012) concludeert in haar advies aan de minister van Volksgezondheid, Welzijn en Sport dat het niet bekend is tot welke afstand mensen in de omgeving van veehouderijbedrijven een verhoogd gezondheidsrisico lopen.

De aerogene transmissie van ziektekiemen bestaat uit een aantal stappen: 1) vorming van bio-aerosolen (het maken en in de lucht komen van deeltjes met (ziekte)kiemen); 2) het emitteren van bio-aerosolen uit de stal; 3) transport van bio-aerosolen naar de voor deze ziekte gevoelige dieren; 4) inhalatie/opname van de bio-aerosolen door de voor deze ziekte gevoelige dieren of mensen. De ziekte slaat vervolgens aan wanneer aan twee criteria wordt voldaan: 1) dat een voldoende aantal infectieuze kiemen wordt ingeademd/opgenomen; 2) dat de kiemen hun infectieuze kracht hebben behouden. We beperken ons in dit rapport tot de processen en factoren die de vorming en emissie van bio-aerosolen beïnvloeden (stap 1 en 2). Wat betreft de diersoorten beperken we ons tot runderen, varkens, pluimvee en geiten.

De vorming en emissie van bio-aerosolen is een multi-factorieel proces. Het doel van deze deskstudie is om de processen en factoren te beschrijven die van invloed zijn op de vorming en emissie van bio-aerosolen. Op basis van dit rapport kan meer gericht onderzoek worden uitgezet om de emissie van

bio-aerosolen (met ziektekiemen) uit stallen te voorkomen. In dit rapport hebben we ons niet beperkt tot de zoönosen, maar hebben we de vorming en emissie van bio-aerosolen in brede zin besproken. In de discussie zal wel specifiek aandacht worden gegeven aan de betekenis van de beschreven processen en factoren op de verspreiding van de zoönosen die op dit moment veel aandacht krijgen (Q-koorts, MRSA).

In hoofdstuk 2 worden de verschillende bronnen van ziektekiemen en stof in stallucht beschreven en wordt aangegeven welke kiemen mogelijk via de lucht worden verspreid. Daarnaast wordt aangegeven wat de rol is van stof bij de verspreiding van (ziekte)kiemen. In hoofdstuk 3 worden de processen en factoren beschreven die de concentratie en emissie van ziektekiemen beïnvloeden. De literatuurstudie in hoofdstukken 2 en 3 is voor een deel gebaseerd op de paper van Zhao *et al.* (2011a). In hoofdstuk 4 worden de resultaten in het kort bediscussieerd en wordt de betekenis van de resultaten voor de huidige problemen ten aanzien van Q-koorts en MRSA belicht. In hoofdstuk 5 tenslotte worden conclusies getrokken en een aantal aanbevelingen gedaan.

2 Ziektekiemen en stof in stallucht

In de hierna volgende paragrafen zullen, na een algemene beschrijving van de rol van bio-aerosolen bij de verspreiding van ziektekiemen, de bronnen en de grootte van de deeltjes in de lucht waarin zich ziektekiemen bevinden worden beschreven. Tevens zal in dit hoofdstuk aandacht worden gegeven aan de belangrijkste ziektekiemen die zich via de lucht verspreiden.

2.1 Rol van bio-aerosolen bij verspreiding van ziektekiemen

Alhoewel door verschillende onderzoekers aerogene transmissie (verspreiding via de lucht) wordt genoemd in verband met verspreiding van een aantal infectieuze dierziekten en zoonosen, is de precieze (kwantitatieve) rol van aerogene transmissie nog onduidelijk. Bij aerogene transmissie spelen bio-aerosolen waarschijnlijk een rol. Bio-aerosolen kunnen vochtdeeltjes zijn of stofdeeltjes. Vochtdeeltjes met biologische componenten ontstaan bijvoorbeeld uit het ademhalingsapparaat (niezen) of uit opspattend urine. Stofdeeltjes ontstaan uit verschillende bronnen, die afhankelijk zijn van het huisvestingssysteem. Belangrijke bronnen die aangegeven kunnen worden zijn mest (feces en urine), huidschilfers, veertjes, voer en strooisel. (Zieke) dieren zijn de belangrijkste bron van infectieuze aerosolen. Uit onderzoek van Wagenaar en Van de Giessen (2009) blijkt bijvoorbeeld dat stof dat verzameld is in stallen een redelijke indicator is van de MRSA-status van een varkens- of vleeskalverbedrijf. Ssematimba *et al.* (2012) concludeerden uit hun onderzoek, dat was gebaseerd op een modelmatige benadering van de verspreiding van hoog pathogeen avian influenza virus (HPAI) tijdens de epidemie in Nederland in 2003, dat bio-aerosolen een belangrijke bijdrage aan de verspreiding van HPAI kunnen leveren. Deze onderzoekers konden 24% van de besmettingen van bedrijf naar bedrijf verklaren met de windgedragen verspreiding van bio-aerosolen.

2.2 Bronnen van ziektekiemen in stallucht

Ziektekiemen in de lucht zijn vooral afkomstig van de dieren zelf (van feces, urine, niezen/hoesten, ademhaling, huidschilfers, andere uitscheidingsproducten zoals melk, eieren, de nageboorte), maar kunnen ook afkomstig zijn van voer, strooisel, de veehouder of uit de omgevingslucht. Het vochtgehalte van de bronnen bepaalt in belangrijke mate of de deeltjes in de lucht worden opgenomen. Micro-organismen in verse feces, bijvoorbeeld, zullen pas opgenomen worden in de lucht nadat de feces zijn ingedroogd en verstoofd. Veel kiemen zullen het proces van indrogen en verstoffen waarschijnlijk niet overleven. Afhankelijk van de omstandigheden zullen er veel of weinig kiemen in stof aanwezig zijn, waarvan in het algemeen slechts een klein deel pathogeen zal zijn.

Dierlijke feces zijn een bron van vele micro-organismen, waaronder protozoën, bacteriën en virussen (Pell, 1997; Letellier *et al.*, 1999). Sommige micro-organismen, zoals E-coli en Salmonella, kunnen in grote aantallen via feces worden uitgescheiden, variërend van 10^2 – 10^7 ($2 - 7 \log_{10}$) kolonievormende eenheden (kve's) per g feces (Gray en Fedorka-Cray, 2001; Himathongkham *et al.*, 1999; Omisakin *et al.*, 2003; McGee *et al.*, 2001). Ook verschillende virussen kunnen in grote aantallen via de feces worden uitgescheiden, zoals het Avian influenza (vogelgriep) virus (Webster *et al.*, 1978) en Newcastle disease virus (Spradbrow *et al.*, 1988) bij pluimvee en het varkenspest virus (Van Oirschot, 1979), hepatitis E virus (De Deus *et al.*, 2007) en porcine reproductive en respiratory syndrome virus (PRRSV) (Yoon *et al.*, 1993) bij varkens. Duan *et al.* (2009) vonden veel overeenkomsten tussen E-coli stammen die in de feces op een varkensbedrijf werden geïdentificeerd en de (kweekbare) E-coli stammen die benedenwinds (op 10, 50 en 100 m) van de stal werden gevonden.

De micro-organismen in de feces worden voor een deel in de lucht opgenomen door stofvorming van de mest. Indrogen van de mest heeft tijd nodig en is sterk afhankelijk van de klimatologische omstandigheden (T, RV, luchtsnelheid) en van dieractiviteit. De hoeveelheid mestdeeltjes die in de lucht wordt opgenomen is daarom sterk afhankelijk van de diersoort en het huisvestingssysteem.

Pluimveesystemen met een direct contact tussen dier en strooiselmest zullen meer mestdeeltjes in de lucht brengen dan kooisystemen. In de varkenshouderij komen mestdeeltjes in de lucht door contact tussen de dieren en de ingedroogde mest die achtergebleven is op de roostervloer of dichte vloer. Hetzelfde geldt voor de rundveehouderij, maar dan in mindere mate, aangezien mest van rundvee in het algemeen vochtiger is en daardoor beter wordt afgevoerd door de roostervloer. De ontwikkeling van vrijloopstallen voor melkvee, waarbij de dieren op een zacht bed van zand, compost of droge mest lopen (Van Dooren en Galama, 2009), zullen ten aanzien van dit aspect kritisch moeten worden beoordeeld. Geiten worden in Nederland gehuisvest op stro en staan dus ook in direct contact met de mest. Of dit huisvestingssysteem de verspreiding van Q-koorts bevordert zal nader onderzocht moeten worden.

Micro-organismen kunnen ook met kleine vochtdruppeltjes via de luchtwegen, door niezen, hoesten of ademhaling, in de lucht worden gebracht. De meeste druppeltjes die door mensen als gevolg van niezen en hoesten in de lucht worden gebracht zijn kleiner dan 100 µm (Duguid, 1946). In de veronderstelling dat dit tevens geldt voor dieren, zullen deze druppeltjes snel indampen, waardoor alleen nog de vaste deeltjes (micro-organismen) overblijven (Wells, 1934; Sun en Ji, 2007). Deze kleine deeltjes kunnen als gevolg van hun geringe massa lange tijd in de lucht blijven. De levensvatbaarheid van deze micro-organismen is sterk afhankelijk van de soort kiem en van de omgevingsfactoren (temperatuur, luchtvochtigheid, UV-straling). Een voorwaarde voor het uitscheiden van micro-organismen via de luchtwegen is dat ze voorkomen op de wanden van het ademhalingssysteem. Echter, een aantal micro-organismen die op de wanden van het ademhalingssysteem werden aangetoond, konden desondanks niet worden aangetoond in de uitgeademde lucht (Hermann *et al.*, 2008; Cho *et al.*, 2006). Dit zou veroorzaakt kunnen worden door het feit dat deze micro-organismen niet met de ademhalingslucht worden uitgescheiden of dat de aantallen zo gering zijn dat ze niet konden worden aangetoond met de bemonsteringsapparatuur (Hermann *et al.*, 2008).

Huid, haren, veren, nageboorte en dierlijke producten, zoals eieren en melk, kunnen besmet zijn met micro-organismen en kunnen op die manier tevens een bron zijn van kiemen in de stallucht. Bij de dierlijke producten gaat het dan vooral om datgene wat in de stal terecht komt en blijft liggen, zoals gebroken eieren en melk die koeien in de stal laten lopen. Besmette geiten kunnen bij een abortus veroorzaakt door *C. burnetii* grote hoeveelheden bacteriën uitgescheiden (tot 1 miljard bacteriën per gram placenta (Arricau-Bouvery *et al.*, 2005)). *C. burnetii* wordt ook, maar in mindere mate, uitgescheiden via de melk en via de feces (Roest *et al.*, 2011b).

Alles wat de stal ingebracht wordt kan een bron zijn van besmetting. In de eerste plaats zijn dat de dieren zelf, wanneer ze van een ander bedrijf of uit een andere stal afkomstig zijn. Strooisel voor pluimvee bleek verschillende kiemen te bevatten die verbonden zijn met afbraak van hout en afbraak van stikstof en zwavel componenten (Lu *et al.*, 2003). Voer dat de stal ingebracht wordt kan ook een reservoir zijn van micro-organismen, bijvoorbeeld Clostridia, Listeria, E. coli en Salmonella (Maciorowski *et al.*, 2007). Uit onderzoek in de jaren '90 in de VS bleek dat Salmonella enterica voorkwam in 25% tot 56% van de voermonsters van mengvoerbedrijven (McChesney *et al.*, 1995; Crump *et al.*, 2002). Goede controles en toepassing van het HACCP programma kunnen dit soort voerbesmettingen in belangrijke mate voorkomen. De veehouder en de ingaande buitenlucht kunnen ook voor besmetting in de stal zorgen. Acinetobacter en Enterobacter agglomerans, die normaal gesproken vooral voorkomen in zand, water en in het menselijke lichaam, werden teruggevonden in varkensstallen, waarschijnlijk via de ventilatielucht. Vergeleken met de bijdrage van de dieren zelf, is de bijdrage van de veehouder en de inkomende ventilatielucht echter relatief gering (Martin *et al.*, 1996).

Ook insecten en knaagdieren (muizen en ratten) kunnen een bron zijn van ziektekiemen. Zo is aangetoond dat kevers een bron kunnen zijn van transmissie van Campylobacter jejuni en Salmonella enterica van de ene koppel vleeskuikens naar de volgende (Hazeleger *et al.*, 2008). Uit Deens onderzoek blijkt dat vliegen een belangrijke bron kunnen zijn van besmetting met Campylobacter jejuni en Campylobacter coli (Hald *et al.*, 2008; Hald *et al.*, 2007). In meer open systemen, zoals biologische stalsystemen met uitloop voor de dieren, kunnen knaagdieren ook een belangrijke bron zijn van ziektekiemen. Deze bron van transmissie kan vrij gemakkelijk worden verward met directe

transmissie van ziektekiemen via de lucht. Voor *Campylobacter* bijvoorbeeld is het zeer aannemelijk dat deze niet van bedrijf tot bedrijf via aerosolen door de lucht wordt verspreid, aangezien *Campylobacter* zeer gevoelig is voor droge omstandigheden (Zhao *et al.*, 2011b). Transmissie via ongedierte (vliegen, knaagdieren) lijkt echter zeer aannemelijk (Hazeleger *et al.*, 2008; Hald *et al.*, 2008; Hald *et al.*, 2007).

Op basis van het voorgaande kan geconcludeerd worden dat kiemen vooral via het ademhalingssysteem van de dieren en via stofbronnen in de lucht worden gebracht. De belangrijkste stofbron voor ziektekiemen is de uitgescheiden mest. Daarnaast kunnen ziektekiemen ook in de lucht komen via huidschilfers, dierlijke producten (melk, eieren) en besmet strooisel en voer.

2.3 Bronnen van stof in stallucht

Het belang van individuele stofbronnen kan sterk variëren tussen verschillende diersoorten en verschillende stalsystemen (Aarnink en Ellen, 2006). Stof in een vleeskuikenstal bleek volgens Aarnink *et al.* (1999a) vooral afkomstig van veertjes en van kristallen (waarschijnlijk afkomstig van mineralen in de urine). Voeer, feces, strooisel en micro-organismen/schimmels droegen ook bij aan stof in de vleeskuikenstal, maar in mindere mate. Uit onderzoek van Cambra-Lopèz *et al.* (2011) blijkt dat bij pluimvee de deeltjes (in aantallen en in massa) vooral afkomstig zijn van veertjes, mest en houtkrullen (indien toegepast) en in mindere mate van het voer. Stofanalyses in varkensstallen lieten zien dat de deeltjes vooral voer- en mestcomponenten bevatten (Donham *et al.*, 1986; Heber *et al.*, 1988) en huidschilfers (Aarnink *et al.*, 2004). In een scharrelstal was ook een belangrijk deel van het stof afkomstig van verstoofd strooisel (Aarnink *et al.*, 2004). In een stal voor gespeende biggen bleek het stof vooral afkomstig te zijn van voer en huidschilfers en in mindere mate van feces en minerale kristallen (Aarnink *et al.*, 1999a). Uit onderzoek van Cambra-Lopèz *et al.* (2011) blijkt dat bij varkens de stofdeeltjes (in aantallen en in massa) vooral afkomstig waren van huidschilfers en mest en in mindere mate van het voer. Uit datzelfde onderzoek bleek dat bij melkvee de deeltjes vooral afkomstig waren van stro, strooisel, mest, silage (ruwvoer) en mengvoer.

Uit voorgaande kan geconcludeerd worden dat vooral mest en daarnaast huidschilfers en veertjes belangrijk bijdragen aan stof in de lucht van stallen.

2.4 Kiemen die via de lucht worden verspreid

De meeste aerogene micro-organismen in stallen zijn bacteriën, waarvan het merendeel gram-positief is. Staphylococci, Streptococci en Enterococci zijn de meest voorkomende gram positieve bacteriën (Matkovic *et al.*, 2007). De gram negatieve bacteriën zijn in het algemeen in geringere aantallen aanwezig. Bakutis *et al.* (2004) rapporteerden dat de gram negatieve bacteriën respectievelijk circa 10%, 4,9% en 2,6% uitmaakten van het totaal aantal bacteriën in koeien-, varkens- en pluimveestallen. Het merendeel van de gram negatieve bacteriën behoort tot de familie van de Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae en Neisseriaceae (Zucker *et al.*, 2000). De fractie schimmels en gisten in aerogene micro-organismen is relatief gering (Hartung, 1992). De meest voorkomende schimmels in pluimvee-, varkens- en melkveestallen zijn *Aspergillus* sp., *Alternaria* sp., *Cladosporium* sp., *Penicillium* sp., *Fusarium* sp., *Scopulariopsis* sp. (Cormier *et al.*, 1990; Matkovic *et al.*, 2007; Martin *et al.*, 1996; Wilson *et al.*, 2002; Vittal en Rasool, 1995; Chang *et al.*, 2001).

2.5 Verdeling van micro-organismen over verschillende stoffracties

In het algemeen geldt dat hoe kleiner de deeltjes met ziektekiemen zijn des te groter de verwachte impact is, omdat kleinere deeltjes langer in de lucht blijven zweven en ook dieper in de longen kunnen doordringen. De variatie in de grootte of omvang van de stofdeeltjes en de verdeling van de micro-organismen over deze stofdeeltjes is daarom belangrijk.

Wanneer ziektekiemen in de lucht afkomstig zijn van een droge materie (b.v. feces) dan is het aannemelijk dat ze een integraal geheel vormen met de andere componenten van deze stofbron en dat het aantal kiemen uit deze stofbron gerelateerd is aan het aantal stofdeeltjes dat gevormd is uit deze bron. Stofdeeltjes worden gekarakteriseerd naar grootte. Grote deeltjes ($> 10 \mu\text{m}$) worden voor een belangrijk deel afgevangen door de slijmvliezen in de neus- en keelholte. Dit kan irritatie in de neus- en keelholte en niezen veroorzaken. Deeltjes in de grootte van $4 - 10 \mu\text{m}$ bereiken de luchtpijp, wat ook leidt tot irritatie van de slijmvliezen. Deeltjes kleiner dan $4 \mu\text{m}$, ook wel de respirabele fractie genoemd, bereiken de bronchiën en de alveoli. Deze deeltjes veroorzaken de grootste schade.

De grootte van micro-organismen varieert sterk. Ruwweg kan aangegeven worden dat virussen een aerodynamische diameter¹ hebben van $0,1 \mu\text{m}$, bacteriën van $1,0 \mu\text{m}$ en schimmels van $10 \mu\text{m}$. In Tabel 1 wordt de grootte en de vorm van een aantal bacteriën weergegeven. Uit voorgaande blijkt dat virussen en bacteriën in het algemeen beduidend kleiner zijn dan de stofdeeltjes die veelvuldig in de lucht voorkomen (PM10).

Tabel 1

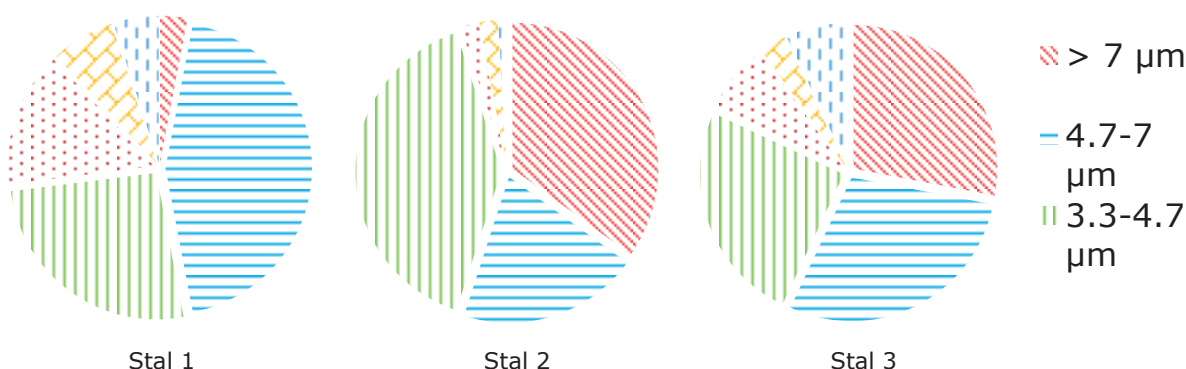
Grootte en vorm van een aantal bacteriën (Zhao et al., 2010)

Bacterie	Grootte (μm) ^a	Vorm	Categorie
<i>E. faecalis</i>	1 ^b	Bol	Gram +
<i>E. coli</i>	$2 \times 0,5$	Staafje	Gram -
<i>C. jejuni</i>	$3 \text{ to } 5 \times 0,5$	Spiraal	Gram -
<i>M. synoviae</i>	$0,3 \text{ to } 0,8$	Bol	Geen celwand

^a Diameter voor bolvormige bacteriën en lengte x breedte voor andere vormen

^b Ruwe schatting

De meeste micro-organismen in de lucht zijn verbonden met stofdeeltjes in de niet-respirabele fractie (deeltjes met een diameter groter dan $4 - 5 \mu\text{m}$). In varkensstallen was de fractie levensvatbare bacteriën, ten opzichte van het totaal aantal levensvatbare bacteriën in de lucht, $69 - 72\%$ in deeltjes groter dan $4,7 \mu\text{m}$ en $78 - 89\%$ in deeltjes groter dan $3,3 \mu\text{m}$ (Curtis et al., 1975). Zhao et al. (2008; 2011c) vonden in de uitgaande lucht van varkensstallen een vergelijkbaar aandeel bacteriën in de fractie deeltjes groter dan $3,3 \mu\text{m}$ (variërend van 73 tot 95%) (Figuur 1). In een melkveeststal werden ook grotere aantallen bacteriën gevonden in de deeltjes groter dan $7 \mu\text{m}$ dan in de deeltjes in de ranges van $0,65 - 1,1 \mu\text{m}$ en $1,1 - 2,1 \mu\text{m}$ (Wilson et al., 2002). De verdeling over de deeltjesgroottes kan tevens variëren met de leeftijd van de dieren. Bij jonge vleeskuikens werden evenveel of zelfs meer bacteriën gevonden in de kleine deeltjes, terwijl bij oudere vleeskuikens de bacteriën vooral voorkwamen in de grotere deeltjes (Madelin en Wathes, 1989).



Figuur 1 Verdeling over deeltjesgrootte van bacteriën in de uitgaande lucht van drie verschillende vleesvarkensstallen, gemeten met een 'Andersen six stage viable bio-sampler' (Zhao et al.,

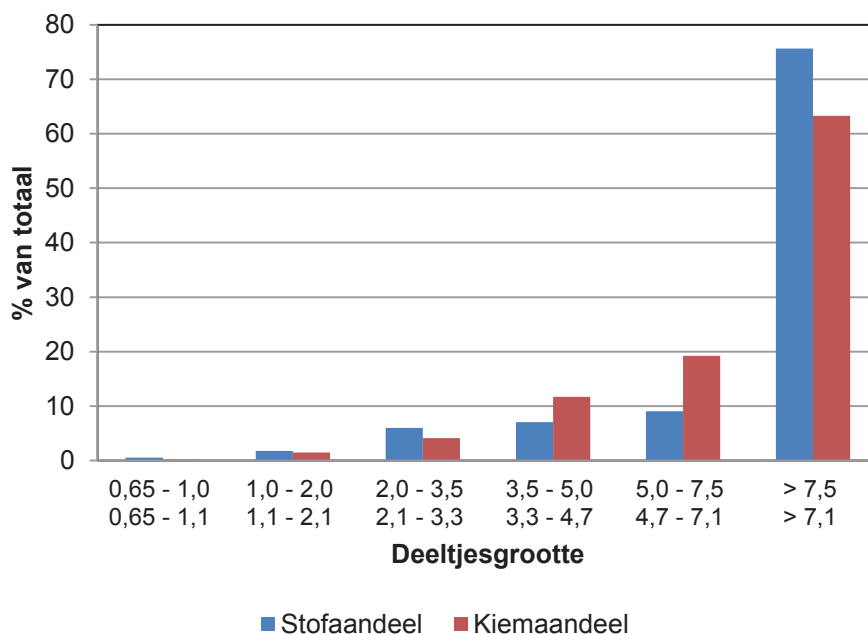
¹ De aerodynamische diameter van een deeltje is de diameter van een bolvormig deeltje met een dichtheid van 1 kg/dm^3 dat dezelfde valsnelheid heeft als het betreffende deeltje.

2008; Zhao *et al.*, 2011c). Kiemconcentraties (in kve per m^3 stallucht) waren in stal 1: 3,7 (s.e. 3,1) $\times 10^4$; stal 2: 88,2 (s.e. 44,1) $\times 10^4$; stal 3: 8,6 (s.e. 1,0) $\times 10^4$

De grootte-verdeling van stofdeeltjes in de lucht wordt ofwel in massa ofwel in aantallen weergegeven. Dit laat totaal verschillende beelden zien. Niet-respirabele deeltjes maken meer dan 80% van de massa uit in varkensstallen, terwijl dit minder dan 30% van het aantal deeltjes is (Heber *et al.*, 1988). De massafractie zeer fijnstof (deeltjes kleiner dan 2,5 μm) van het fijnstof (deeltjes kleiner dan 10 μm) was 8-12% in varkensstallen, 9% in vleeskuikenstallen en 3% in stallen voor leghennen (Cambra-Lopez *et al.*, 2010; Zhao *et al.*, 2009). Het aantal deeltjes is echter in de fractie zeer fijnstof veel hoger dan in de fractie tussen 2,5 en 10 μm (Lai *et al.*, 2010). Dit verschil wordt veroorzaakt door het feit dat de kleine deeltjes nauwelijks bijdragen aan de massa, ondanks de grote aantallen. Lai *et al.* (2010) maten de deeltjesgrootteverdeling in verschillende pluimvee-, varkens-, melkvee- en nertsenstallen over de diameter range van 0,25 – 32 μm . Ze vonden dat gemiddeld over alle stallen 87% van het totale aantal deeltjes kleiner was dan 1,0 μm ; 5,5% lag in de range 1,0 - 2,5 μm ; 7,3% lag in de range 2,5 - 10,0 μm ; 0,24% lag in de range 10,0 - 32 μm . De massaverdeling van de deeltjes was: 0,5% in de range < 1,0 μm ; 2,0% in de range 1,0 - 2,5 μm ; 50,3% in de range 2,5 - 10,0 μm ; 47,3% in de range 10,0 - 32 μm .

In een onderzoek bij melkgeiten (Aarnink *et al.*, 2012) is de verdeling bepaald van het aandeel stof (in massa) en het aandeel kiemen (in aantallen) in de verschillende deeltjesgrootteklassen (Figuur 2). Hieruit blijkt dat het aantal kiemen redelijk evenredig met het aandeel stof is verdeeld over de verschillende deeltjesgrootteklassen.

Uit het voorgaande overzicht van de literatuur komen indicaties naar voren dat bacteriën en waarschijnlijk ook andere micro-organismen zich vrij evenredig (op basis van massa) over de verschillende deeltjesgrootteklassen verdelen. Dit hoeft niet altijd het geval te zijn. De mate van evenredige verdeling zal vooral afhangen van het feit of de stofbronnen waaruit de kiemen emitteren ook belangrijk bijdragen aan de totale stofproductie in de stal en of de deeltjesgrootteverdeling tussen de verschillende stofbronnen al dan niet sterk verschilt.



Figuur 2 Verdeling van stofdeeltjes (% van totale massa) en kiemen (% van totale aantal) over de verschillende deeltjesgrootteklassen. De bovenste rij van de deeltjesgrootteklassen op de X-as gelden voor stof en de onderste voor ziektekiemen.

3 Processen en factoren die concentratie en emissie van ziektekiemen beïnvloeden

In de hierna volgende paragrafen worden de processen en factoren besproken die de vorming en de emissie van bio-aerosolen beïnvloeden. Eerst wordt ingegaan op de processen en factoren die de concentratie micro-organismen en stof in stallucht bepalen, vervolgens wordt ingegaan op de processen en factoren die de overleving van micro-organismen in de lucht bepalen.

3.1 Processen en factoren van invloed op concentratie micro-organismen en stof

Vergeleken met buitenlucht, is stallucht sterk verontreinigd met micro-organismen en stof. De mate van verontreiniging hangt voor een deel samen met de diersoort. In het algemeen worden de hoogste concentraties bacteriën, schimmels en stof gevonden in pluimveestallen (Seedorf *et al.*, 1998; Takai *et al.*, 1998; Lai *et al.*, 2014), gevolgd door varkensstallen en vervolgens rundvee- en nertsenstallen. Studies laten echter grote variaties in concentraties van micro-organismen zien, variërend van niet detecteerbaar tot 10^9 kve (kolonievormende eenheden) per m^3 lucht (Radon *et al.*, 2002; Kim *et al.*, 2008a; Zhao *et al.*, 2011c). Deze variatie kan voor een deel verklaard worden door verschillen in bemonsteringstechnieken. Uit verschillende onderzoeken waar zowel micro-organismen als stof zijn gemeten kan geconcludeerd worden dat er een duidelijke relatie bestaat tussen concentraties stof in stallen en concentraties micro-organismen (bacteriën en schimmels) (Curtis *et al.*, 1975) (Clark *et al.*, 1983) (Cormier *et al.*, 1990). Ook zijn deze positieve correlaties in de tijd waargenomen, met hogere concentraties in de winter dan in de zomer (Crook *et al.*, 1991; Saleh *et al.*, 2005), en hogere concentraties gedurende de dag ten opzichte van de nacht (Kim *et al.*, 2005).

Verskillende factoren beïnvloeden de concentratie micro-organismen in stallen. In algemene zin zijn dat: het dier, het stalsysteem, het management en de omgeving. In Tabel 2 worden de verschillende van belang zijnde factoren en subfactoren weergegeven.

Tabel 2

Factoren die de concentraties micro-organismen en stof in stallen bepalen.

Factor	Subfactor
Dier	Leeftijd, gewicht, gezondheid, activiteit, dichtheid, diersoort
Huisvestingssysteem	Staltype, vloertype, ventilatiesysteem
Management	Hygiëne, voersoort, voersysteem, voersamenstelling, drinksysteem, strooiseltype en hoeveelheid, lichtschema, ventilatie (luchtstroming)
Omgeving	Temperatuur, luchtvochtigheid, (UV-)licht, windrichting en -snelheid

In het algemeen kan gesteld worden dat factoren die de stofconcentratie in de stal beïnvloeden tevens de concentratie micro-organismen in de stallucht beïnvloeden. Echter, het effect van deze factoren op de concentratie micro-organismen is minder eenduidig dan voor stof. Dit wordt veroorzaakt door het feit dat, in tegenstelling tot stof, de concentratie micro-organismen niet alleen door fysische factoren, maar tevens door biologische factoren wordt beïnvloed. Daarnaast bestaat er ook nog een interactie tussen fysische en biologische factoren. Bij een lage luchtvochtigheid b.v. zal er relatief veel stof worden gevormd door het relatief snel indrogen van de stofbronnen. Sommige micro-organismen overleven echter slecht bij lage luchtvochtigheden, terwijl anderen juist goed onder deze omstandigheden kunnen overleven.

3.1.1 Invloed van het dier

Buiten het effect van diersoort, die hiervoor al uitgebreid aan de orde is geweest, hebben de leeftijd, het gewicht, de diergezondheid en de activiteit van het dier en de dierdichtheid (aantal dieren per m²) tevens invloed op de concentratie micro-organismen in de stal. De concentratie micro-organismen neemt in het algemeen toe met de leeftijd van de dieren (Predicala *et al.*, 2001; Hinz en Linke, 1998; Yoder en Van Wicklen, 1988). Bij vleeskuikens nemen echter de concentraties micro-organismen en stof tegen het eind van de ronde iets af (Madelin en Wathes, 1989; Saleh *et al.*, 2005). Dit wordt waarschijnlijk veroorzaakt door het feit dat de activiteit van de vleeskuikens tegen het einde van de ronde afneemt en dat de vochtigheid van het strooisel toeneemt. Beide factoren verminderen het in de lucht brengen van stof vanuit het strooisel (Vucemilo *et al.*, 2007).

De diergezondheid speelt een belangrijke rol bij de uitscheiding van micro-organismen, met name ziektekiemen, door het dier. Als er een besmetting heerst op een bepaald bedrijf dan kunnen dieren grote aantallen ziektekiemen uitscheiden. Dit was bijvoorbeeld het geval bij besmetting van melkgeiten met de Q-koorts bacterie *Coxiella burnetii*. De gezondheid van een dier wordt belangrijk beïnvloed door het management (o.a. hygiëne protocol, vaccinaties), door het ventilatiesysteem en door omgevingsfactoren van het bedrijf (o.a. de dichtheid van veehouderijbedrijven in de omgeving).

Dieractiviteit is waarschijnlijk de belangrijkste factor die veroorzaakt dat stof van oppervlakken in de lucht wordt gebracht. Verschillende onderzoekers hebben een duidelijke relatie tussen dieractiviteit en stofconcentratie aangetoond (Gloster *et al.*, 2007; Pedersen en Pedersen, 1995; Haeussermann *et al.*, 2008). De concentratie micro-organismen in de lucht lijkt ook sterk met dieractiviteit samen te hangen, aangezien deze concentratie ook duidelijk verhoogd is gedurende de dag wanneer de dieractiviteit hoog is (Kim *et al.*, 2005). Een hogere dierbezetting geeft ook hogere concentraties van micro-organismen en stof, zolang de dieractiviteit hierdoor niet beperkt wordt (Sauter *et al.*, 1981; Pavicic *et al.*, 2006).

3.1.2 Huisvestingssysteem

Huisvestingssystemen kunnen een grote invloed hebben op de stofproductie en de stofconcentratie. Volièrehuisvesting voor leghennen bijvoorbeeld geeft in vergelijking met batterijhuisvesting veel hogere stofproducties (De Reu *et al.*, 2005; Appleby en Hughes, 1991). Dit wordt enerzijds waarschijnlijk veroorzaakt doordat leghennen in volièrehuisvesting meer ruimte hebben voor dieractiviteit dan leghennen in batterijhuisvesting, maar nog belangrijker is waarschijnlijk dat leghennen in volièrehuisvesting in direct contact staan met de (strooisel)mest. Hierin gaan ze o.a. zandbaden en krabben waardoor veel stof kan ontstaan. Verschillende onderzoekers vonden dat huisvestingssystemen met (droog) strooisel op de vloer in het algemeen meer problemen geven met de luchtkwaliteit (Kim *et al.*, 2008a; Quarles *et al.*, 1970; Madelin en Wathes, 1989). Dit wordt meestal niet zozeer door het strooisel zelf veroorzaakt, als wel door de mest en andere stofbronnen (veertjes, voer) die in het strooisel terecht komen.

3.1.3 Management

Voerdeeltjes kunnen in belangrijke mate bijdragen aan de stofproductie en het aantal micro-organismen in de lucht (Honey en McQuitty, 1979; Kim *et al.*, 2008b). Daarom is een goede voermethode en een goed voermanagement belangrijk om de luchtkwaliteit in stallen te verbeteren. Gepelleteerd voer geeft minder stof dan meel (Zeitler *et al.*, 1987), brijvoer geeft minder stof dan droogvoer (Zeitler *et al.*, 1987) en voer dat gecoat is met vet of olie geeft minder stof dan niet gecoat voer (Clark en McQuitty, 1988). Het effect van deze maatregelen op micro-organismen is minder uitgebreid onderzocht dan het effect op stof, maar waarschijnlijk zullen de effecten anders zijn. Brijvoer, bijvoorbeeld, geeft minder stof, maar het hogere vochtgehalte in het voer creëert een betere omgeving voor micro-organismen om te overleven (Heber en Martin, 1988). Daarbij speelt waarschijnlijk mee of het brijvoer wordt gemaakt uit vochtrijke bijproducten of dat het pas in de trog wordt aangemaakt door het mengen van droogvoer met water. In het laatste geval krijgen micro-organismen weinig kans om zich te vermenigvuldigen. In het eerste geval kan dit wel gebeuren als b.v. tanks of leidingen onvoldoende worden gereinigd (frequentie en kwaliteit van reinigen).

Een betere stalhygiëne geeft een verlaging van de concentratie bacteriën in de lucht (Banhazi *et al.*, 2008a). Schoonmaken van stallen tussen de ronden verlaagt de concentraties micro-organismen en stof.

De ventilatiehoeveelheid heeft een belangrijke invloed op de concentraties stof en micro-organismen, vanwege het verdunningseffect van ventilatielucht. Aangezien natuurlijk geventileerde stallen in het algemeen meer ventileren, zijn in deze stallen de concentraties stof en micro-organismen vaak lager (Kim *et al.*, 2008a; Van Wicklen en Allison, 1989). De stofemissies zullen echter in het algemeen toenemen als gevolg van hogere luchtsnelheden in de stal, waardoor met name de zwaardere deeltjes langer in de lucht blijven zweven en mee worden gevoerd met de ventilatielucht (Aarnink en Ellen, 2006). Dit is waarschijnlijk ook de verklaring dat Kim *et al.* (2007) vonden dat een verhoging van de ventilatiehoeveelheid van 3,8 tot 6,4 m³ s⁻¹ in een varkensstal de respirabele deeltjes significant verlaagde, maar geen invloed had op de totale stofconcentratie en concentratie micro-organismen.

3.1.4 Omgevingsfactoren

Een hoge luchtvochtigheid in de stal reduceert de concentratie van stof in stallen (Guarino *et al.*, 1999). In vochtige omgevingen zijn de stofdeeltjes sterker gebonden aan oppervlakken en zullen daardoor minder snel worden opgenomen in de lucht. De stofdeeltjes in vochtige lucht zullen ook meer water absorberen, waardoor ze zwaarder worden, eerder aggregeren en daardoor eerder sedimenteren (Takai *et al.*, 1998). De luchtvochtigheid heeft geen invloed op de concentratie totale en gram-negatieve bacteriën (Attwood *et al.*, 1987; Banhazi *et al.*, 2008b; Nicks *et al.*, 1993). Dit wordt waarschijnlijk veroorzaakt door het feit dat de luchtvochtigheid niet alleen de fysische depositie beïnvloedt, maar tevens de vermenigvuldiging van de bacteriepopulatie (Dunklin en Puck, 1948; Lighthart, 1973; De Rezende *et al.*, 2001). Het voorgaande geeft aan dat het aantal micro-organismen in de lucht niet simpel kan worden gereduceerd door het stof te binden met water. De kennis over de relatie tussen vochtigheid en micro-organismen moet verder worden ontwikkeld om te bepalen hoe de fysische en biologische processen precies worden beïnvloed en wat het overall effect is op concentraties micro-organismen.

Hogere temperaturen zorgen voor een lagere relatieve luchtvochtigheid, waardoor stof eerder opgenomen wordt in de lucht. Echter, wanneer de temperatuur hoog wordt, zal de stofconcentratie waarschijnlijk afnemen als gevolg van een toename van het ventilatieniveau. Bij gebruik van verdampingskoelingssystemen zal, door de hogere luchtvochtigheid, de stofconcentratie ook afnemen (Simmons en Lott, 1996). Daarnaast zal bij hoge temperaturen de dieractiviteit afnemen (Wylie *et al.*, 2001). Deze tegengestelde effecten zorgen ervoor dat zowel positieve en negatieve, als geen effecten van temperatuur op de stofconcentraties worden gevonden (Guarino *et al.*, 1999; Al Homidan *et al.*, 1997; Banhazi *et al.*, 2008a; Banhazi *et al.*, 2008b). Voor micro-organismen werden ook tegengestelde relaties (zowel positief als negatief) met temperatuur gevonden (Whyte, 1993; Sauter *et al.*, 1981; Duchaine *et al.*, 2000).

De meeste bacteriën en virussen zijn gevoelig voor UV-licht. Blootstelling aan UV-straling zal daarom de concentratie kiemen in de lucht verlagen (Roelofs, 1996). UV-straling dringt echter slecht door in stof. Bacteriën en virussen die ingekapseld zijn in stofdeeltjes worden daarom (gedeeltelijk) afgeschermd van UV-straling.

In (zeer) open stallen kan de windrichting en de windsnelheid van belang zijn. Aan de ene kant verhoogt een hogere windsnelheid het ventilatieniveau in deze stallen en zullen de deeltjes zich in verticale richting (door de hoge turbulentie) ook meer verspreiden. Hierdoor worden de deeltjes met een groter volume verdund, waardoor de concentraties lager worden en daarmee neemt de kans op verspreiding van de ziekte af. Aan de andere kant zullen door de hoge luchtsnelheid de deeltjes langer in de lucht blijven, dit geldt vooral voor de zware deeltjes, waardoor er meer stof kan emitteren. Bij gelijkblijvende emissies kunnen lagere windsnelheden tot hogere concentraties stof en kiemen en daarmee tot een hogere belasting van de directe omgeving leiden als gevolg van het geringere verdunningseffect. Hogere windsnelheden kunnen echter micro-organismen over een grotere afstand verspreiden en ook grotere deeltjes meevoeren, zonder dat deze neerslaan. Berekeningen met verspreidingsmodellen, gericht op verspreiding van deeltjes, zullen hier meer inzicht in kunnen geven.

3.2 Processen en factoren van invloed op overleving van micro-organismen in lucht

Deeltjes in de lucht die micro-organismen bevatten (bio-aerosolen) worden gedeeltelijk uit de lucht verwijderd door depositie op oppervlakken of via agglomeratie met andere deeltjes. Deze processen worden ook wel de fysische verwijdering genoemd. De fysische verwijdering hangt voor een belangrijk deel samen met de deeltjesgrootte. Micro-organismen in de lucht zijn echter ook onderhevig aan biologische verwijdering / afbraak. Hierdoor neemt de levensvatbaarheid van de micro-organismen af. De mate van biologische afbraak hangt samen met verschillende factoren die de levensvatbaarheid van micro-organismen beïnvloeden. De invloed van deze factoren is sterk afhankelijk van de soort micro-organisme.

3.2.1 Fysische verwijdering

De fysische verwijdering kan worden gekwantificeerd via de depositiesnelheid (Zhang, 2004). Hoe hoger de depositiesnelheid is, des te korter verblijven de deeltjes in de lucht. De depositiesnelheid is berekend voor deeltjes in de range van 0,015 tot 6 μm (He *et al.*, 2005). De resultaten laten een U-vormig patroon zien voor depositiesnelheid. De laagste depositiesnelheid werd gevonden voor deeltjes in de range van 0,2 tot 0,3 μm . De grotere deeltjes slaan neer als gevolg van gravimetrische sedimentatie en kleinere deeltjes slaan neer als gevolg van diffusie effecten (vergelijkbaar met gassen). Dit wordt bevestigd door een studie van Lai (2006), die rapporteerde dat deeltjes in de range van 0,1 – 1,0 μm het langst in de lucht verblijven. Naast de deeltjesgrootte, wordt de fysische verwijdering tevens bepaald door factoren als elektrostatische effecten, ruwheid van het oppervlak, mate van turbulentie, etc. (Lai, 2002; Thatcher *et al.*, 2002). Het principe van fysische verwijdering is gebruikt voor de ontwikkeling van stofverwijderingstechnieken, zoals luchtwassing, filtratie, elektrostatische verwijdering en verwijdering met cyclonen (Mitchell en Waltman, 2003; Hofschreuder *et al.*, 2007; Zhao *et al.*, 2011c). Deze technieken laten verschillende reductie-efficiënties zien (Zhao *et al.*, 2011c; Cambra-López *et al.*, 2009).

3.2.2 Biologische afbraak

De biologische afbraak, die uitgedrukt kan worden in overlevingskans of halfwaardetijd, wordt bepaald door de afname in levensvatbaarheid of in de mate waarin de micro-organismen infectieus zijn (Cox, 1989). In transmissie modellen moet terdege rekening worden gehouden met deze biologische afbraak, vooral bij transmissie over grote afstanden. De biologische afbraak hangt nauw samen met het type micro-organisme. Bacteriën zijn bijvoorbeeld gevoeliger voor afbraak dan virussen, vanwege de grotere complexiteit in biochemie, celstructuren en cel-organisatie (Cox, 1989). Wanneer bacteriën echter sporen vormen dan zijn die veel resistentier dan de vegetatieve vorm. Gram-positieve bacteriën zijn in het algemeen meer bestand tegen afbraak in een aerosol dan gram-negatieve bacteriën (Theunissen *et al.*, 1993). De biologische afbraak wordt in belangrijke mate bepaald door een interactie tussen type micro-organisme en factoren zoals luchtvochtigheid, zuurstofgehalte, temperatuur, ozonconcentratie, straling (UV, gamma-straling, elektromagnetische straling), ionenconcentratie en luchtverontreiniging (CO, SO₂ en NO_x) (Lighthart, 1973).

3.2.2.1 Factoren die biologische afbraak beïnvloeden

Alhoewel de luchtvochtigheid een belangrijke factor is voor overleving van micro-organismen en er relatief veel onderzoek naar is gedaan, is de invloed op micro-organismen niet eenduidig. Sommige micro-organismen zijn erg gevoelig voor lage luchtvochtigheden, bijvoorbeeld *Serratia marcescens* (een gram-negatieve bacterie van de familie Enterobacteriaceae, die urine- en wondinfecties kan veroorzaken, vooral in ziekenhuizen) (Lighthart, 1973). Bij het mond-en-klauwzeer virus neemt de kans op overleving af bij een relatieve vochtigheid onder 60% (Barlow en Donaldson, 1973). Deze micro-organismen kunnen waarschijnlijk onvoldoende vocht vasthouden als gevolg van de hoge osmotische stress bij lage luchtvochtigheden. In oplossing kunnen deze kiemen alleen overleven bij een lage osmotische druk. Bacteriën die tolerant zijn voor een hoge osmotische druk in oplossing zijn in het algemeen ook tolerant voor een lage luchtvochtigheid in stallucht, zoals *Staphylococcus aureus*. Er zijn echter ook micro-organismen die slecht overleven bij een gemiddelde luchtvochtigheid zoals *Mycoplasma laidlawii* en *Mycoplasma gallisepticum* (40 - 60%) (Wright *et al.*, 1968), *Pasteurella*

tularensis (30 - 60%) (Cox en Goldberg, 1972), Bovine Rotavirus (Moe en Harper, 1983), Staphylococci, en Streptococci (50%) (Dunklin en Puck, 1948). De gevoeligheid van micro-organismen bij een gemiddelde luchtvochtigheid wordt toegeschreven aan een grotere gevoeligheid in deze luchtvochtigheidsrange voor giftige stoffen en andere afbraakfactoren (Webb, 1963; Dunklin en Puck, 1948). Sommige micro-organismen zijn gevoelig voor een hoge luchtvochtigheid, zoals *E. coli* (Cox, 1989) en enkele typen virussen met vetachtige membranen (Theunissen *et al.*, 1993; Songer, 1967).

De temperatuur beïnvloedt de afbraak van micro-organismen via enzym gerelateerde en niet-enzym gerelateerde mechanismen. In het enzym gerelateerde mechanisme is de afbraak van micro-organismen het laagst bij die temperaturen waarbij de enzym gerelateerde katalytische reacties in het metabolisme van de cel optimaal verloopt. Bij lagere en hogere temperaturen zal de afbraak toenemen. Bij hele hoge temperaturen zullen de enzymen worden beschadigd. De niet-enzym gerelateerde mechanismen zijn uitgebreid beschreven door Cox (1989). Het onderzoek naar de invloed van temperatuur op de overleving van micro-organismen in de lucht is minder uitgebreid dan die voor de invloed van luchtvochtigheid. In het algemeen kan gesteld worden dat hoe hoger de temperatuur des te sneller micro-organismen in de lucht afsterven. Voor een gedetailleerd overzicht van de optimale en slechtste temperaturen en luchtvochtigheden voor de overleving van verschillende micro-organismen in de lucht, zie Zhao *et al.* (2010b).

Straling zorgt voor inactivering van micro-organismen via beschadiging van het DNA. De mate van inactivering hangt samen met de golflengte van het licht. Straling met een zeer korte golflengte (X-straling en gamma-straling) zorgt voor een sterke inactivering door het hoge energieniveau van deze straling; daardoor kunnen atomen zelfs elektronen verliezen en ioniseren. In het ultraviolette (UV) licht is een golflengte van 260 nm het meest schadelijk voor micro-organismen. Deze straling wordt namelijk effectief geabsorbeerd door het DNA of RNA van de micro-organismen. Blootstelling aan UV-straling zal daarom de concentratie kiemen in de lucht verlagen (Roelofs, 1996). Micro-organismen kunnen verschillend reageren op straling. Harris *et al.* (1987) vonden dat virussen in het algemeen meer resistent zijn tegen straling dan bacteriën. Het mond-en-klauwzeer virus, bijvoorbeeld, bleek in tegenstelling tot *E. coli* slechts zeer beperkt te worden geïnactiveerd door blootstelling aan zonlicht gedurende 30 minuten (Donaldson en Ferris, 1975). Hijnen *et al.* (2006) verklaren dit door het feit dat het DNA van bacteriën eerder wordt aangetast door UV-licht dan het RNA van virussen. Het uiteindelijke effect is niet alleen afhankelijk van de golflengte, maar tevens van de intensiteit van de straling en de duur van de blootstelling (Tong en Lighthart, 1997).

Enzymen in micro-organismen kunnen worden geïnactiveerd door zuurstof. Al naar gelang hun tolerantie voor zuurstof worden micro-organismen ingedeeld in obligaat aerobe, facultatief aerobe en obligaat anaerobe. Obligaat aerobe micro-organismen beschikken over een mechanisme om zich tegen zuurstof te beschermen. Dit mechanisme ontbreekt bij obligaat anaerobe micro-organismen. De afbraak van micro-organismen als gevolg van zuurstof is afhankelijk van de zuurstofconcentratie. Voor *E. coli*, bijvoorbeeld, was 30% zuurstof in de lucht sterk dodend (Cox, 1989). *E. coli* kan echter ook niet geheel zonder zuurstof. In stikstofgas gingen *E. coli* bacteriën eerder dood dan in lucht (Cox, 1970; Cox, 1971). Vergeleken met bacteriën zijn virussen minder gevoelig voor zuurstof (Benbough, 1971; De Jong *et al.*, 1975).

Voor metabolische activiteit hebben micro-organismen onder meer koolstof, zuurstof, stikstof, fosfor en zwavel nodig. Deze componenten zouden geleverd kunnen worden door de stofdeeltjes waarin het micro-organisme zich bevindt (Maus *et al.*, 2001). De chemische samenstelling van het stof zou daarom van invloed kunnen zijn op de overleving van micro-organismen. Studies van de samenstelling van stof in stallen tonen aan dat een groot deel van het stof bestaat uit organische stof (Muller en Wieser, 1987; Aarnink *et al.*, 1999b). Naast de chemische samenstelling van stof, hangt de afbraak van micro-organismen waarschijnlijk ook samen met fysische eigenschappen van het stof, zoals poreusheid en hygroscopische eigenschappen (Milling *et al.*, 2005).

3.2.2.2 Studies van microbiële afbraak

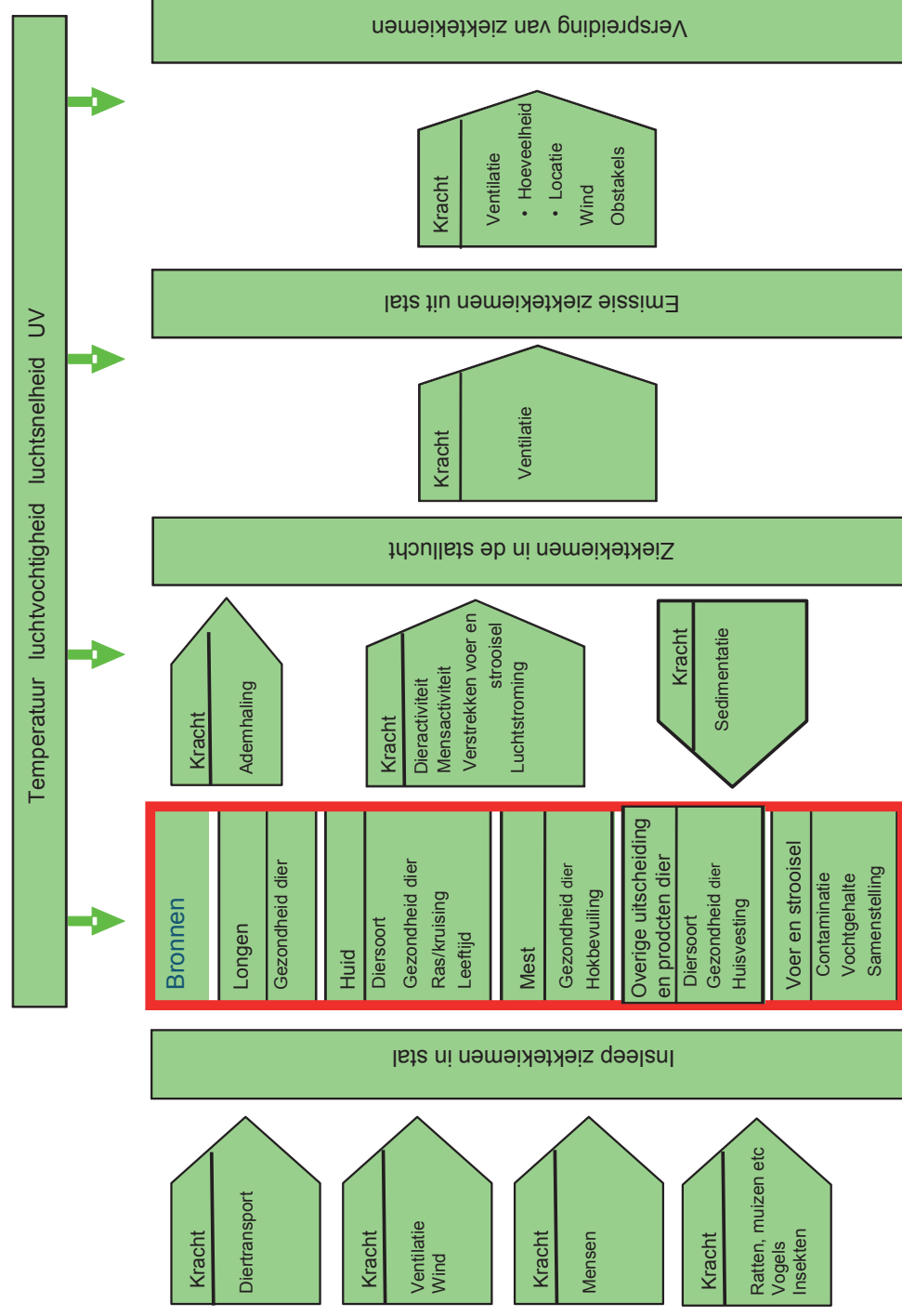
De microbiologische afbraak van micro-organismen in de lucht is onderzocht in verschillende lab-experimenten. Hiertoe werden bekende hoeveelheden micro-organismen in de lucht gebracht. Na bepaalde tijdsintervallen werden monsters genomen van de lucht. Op basis hiervan kon de afbraak

van micro-organismen in de tijd worden bepaald. Bij gebruik van bepaalde monsternamen-apparatuur, moet eerst vastgesteld worden wat de afbraak is als gevolg van de monstername zelf. Dit moet voor ieder micro-organisme worden bepaald. Gebruik van inerte tracers kunnen hierbij helpen (Ijaz *et al.*, 1987; Ijaz *et al.*, 1985; Zhao *et al.*, 2010a; Zhao *et al.*, 2011c). In de meeste proeven om de biologische afbraak (halfwaardetijd) van micro-organismen te bepalen is gebruik gemaakt van verneveling van een vloeistof in een bepaalde ruimte, waarin de monsters worden genomen. In stallen komen de meeste bacteriën echter niet voor in vochtige aerosolen, maar in droge aerosolen (stofdeeltjes). Vochtige aerosolen bestaan voor het merendeel uit vocht, terwijl droge aerosolen voor het merendeel uit drogestof bestaan. Stalstof heeft een drogestofgehalte van ca. 90% (Aarnink *et al.*, 1999a). Studies naar de biologische afbraak van micro-organismen in droge aerosolen staan nog in de kinderschoenen.

3.3 Samenvatting van processen en factoren die aerogene transmissie van ziektekiemen beïnvloeden

Verschillende factoren en processen zijn van invloed op de transmissie van ziektekiemen via de lucht. Uit voorgaande paragrafen is duidelijk geworden dat stof van invloed kan zijn bij de verspreiding en overleving van ziektekiemen. Naar analogie met de processen en factoren bij fijnstofemissie in de veehouderij (Aarnink en Ellen, 2006) wordt in Figuur 3 schematisch aangegeven welke bronnen en hun kenmerken relevant zijn en welke processen en activiteiten, in de figuur aangeduid met krachten, van belang zijn bij de emissie van ziektekiemen uit stallen.

Micro-organismen, waaronder ziektekiemen, worden het bedrijf ingesleept via diertransport, ventilatielucht, voer, strooisel, mensen die het bedrijf bezoeken en via knaagdieren, vogels en insecten. Deze kiemen kunnen vervolgens verder worden verspreid over het bedrijf en ze kunnen zich, onder geschikte omstandigheden, vermenigvuldigen. De ziektekiemen kunnen vervolgens in de lucht terecht komen via vochtige deeltjes die bij de ademhaling worden gevormd en via droge deeltjes afkomstig van de huid (huidschilfers, delen van veertjes en haren), ingedroogde mestdeeltjes, deeltjes afkomstig van overige uitscheidingsproducten (o.a. nageboorte, melk, eieren) en deeltjes afkomstig van gecontamineerd voer en strooisel. De droge stofdeeltjes worden vervolgens in de lucht gebracht via activiteiten van mens en dier. Het vochtgehalte van de vochtige deeltjes neemt in het algemeen snel af in de lucht. Hoe kleiner het deeltje hoe sneller het vocht verdampt, mede afhankelijk van de relatieve luchtvochtigheid en de temperatuur van de omgevingslucht. De deeltjes kunnen vervolgens met de luchtstroom worden meegevoerd naar buiten of weer sedimenteren op oppervlakken onder invloed van zwaartekracht, diffusie- of elektrostatische krachten. Geëmitteerde bio-aerosolen kunnen afhankelijk van hun grootte en massa, van de locatie van de uitlaat, de ventilatiehoeveelheid, de uitwerksnelheid en de meteorologische en geografische omstandigheden meer of minder ver worden meegevoerd met de luchtstroom. Afhankelijk van de halfwaardetijd van een bepaald ziektekiem onder de betreffende omstandigheden, kan deze ziektekiem zijn levensvatbaarheid en daarmee zijn infectiekracht gedurende kortere of langere tijd behouden.



Figuur 3.1 Bronnen van ziektekiemen met invloedsfactoren en processen en activiteiten (krachten) die van invloed zijn op de vorming van bio-aerosolen en op de emissie en verspreiding van ziektekiemen via de lucht.

4 Discussie

In dit hoofdstuk wordt specifiek ingegaan op de verspreiding van ziektekiemen en de relatie met de MRSA-problematiek en de problematiek van Q-koorts. Vervolgens wordt ingegaan op de verspreiding van ziektekiemen in het algemeen en het belang van de verspreiding van ziektekiemen via de lucht.

4.1 MRSA problematiek

Bepaalde typen *Staphylococcus aureus* bacteriën zijn resistent tegen verschillende antibiotica. Er lijkt voldoende bewijs te zijn dat deze 'livestock-associated' MRSA (Meticilline-resistente *Staphylococcus aureus*) bacterie ook overgedragen kan worden naar de mens (Geenen *et al.*, 2010). MRSA komt veel voor in stofdeeltjes. Stof dat verzameld is in verschillende varkens- en vleeskalverenstallen blijkt een goede indicator te zijn voor de MRSA status van het bedrijf (Wagenaar en Van de Giessen, 2009). In dit onderzoek werd op 68,3% van de varkensbedrijven en op 88% van de vleeskalverenbedrijven MRSA aangetoond in dier en/of stofmonsters. Bij onderzochte koppels vleeskuikens op pluimveeslachterijen bleek 35% positief te zijn voor MRSA. In het voornoemde rapport wordt aangegeven dat het de verwachting is dat stofdeeltjes beladen met MRSA een rol spelen bij de overdracht van MRSA tussen dieren en van dier naar mens. Wel komt in het onderzoek van Wagenaar en Van de Giessen (2009) en van Van Cleef *et al.* (2010) naar voren dat de kans op besmetting duidelijk toeneemt bij een intensiever contact (in tijd en/of via aanraking) tussen mens en dier (en eventueel via indirect contact met het dier via de omgeving van het dier, b.v. via stof). Op vleeskalverenbedrijven bijvoorbeeld kwam MRSA bij 33% van de kalverhouders (verzorgers) voor, tegenover 8% bij de gezinsleden van deze kalverhouders. De relatie tussen de aantallen MRSA in de lucht en de overdracht naar de mens is op dit moment in onderzoek (Project Bactopath).

4.2 Q-koorts problematiek

De Q-koorts wordt veroorzaakt door de bacterie *Coxiella burnetii*. Dit is een relatief kleine gram-negatieve bacterie die zeer infectieus is en bestand is tegen verschillende fysische condities, zoals hoge osmotische druk, ultrasone golven (McCaul en Williams, 1981), hoge temperaturen, uitdroging en UV-licht (Oyston en Davies, 2011). Het is een endemische ziekte (ziekte die continu aanwezig is in een bepaalde regio of in een bepaalde populatie) bij herkauwers in de meeste landen van Europa. Besmetting met deze bacterie kan, vooral bij geiten en schapen, leiden tot abortus. Besmette dieren scheiden de grootste aantallen bacteriën uit tijdens en vlak na het lammeren (EFSA, 2010). Het is een ziekte die overgedragen kan worden van dier op mens (zoönose) en onder sommige omstandigheden bij een bepaalde risicogroep problemen kan veroorzaken (EFSA, 2010). Humane ziektegevallen zijn vaak gerelateerd aan de nabijheid van kleine herkauwers (geiten, schapen), vooral in de periode rond het werpen en bij abortussen, in combinatie met droog en winderig weer. Volgens Roest *et al.* (2011b) is de geringe afstand tussen bedrijven met aborterende melkgeiten en melkschapen, veroorzaakt door *C. burnetii*, en grote aantallen mensen die in de omgeving wonen, waarschijnlijk de belangrijkste oorzaak geweest van de Q-koorts uitbraken in Nederland. Uit een onderzoek van het RIVM is gebleken dat mensen die binnen een straal van 2 km van een melkgeiten bedrijf (> 400 geiten) met klinische verschijnselen van Q-koorts woonden, een duidelijk hogere kans op besmetting hadden (31x hogere kans) dan mensen die in een straal van 5 tot 10 km van het bedrijf woonden (Schimmer *et al.*, 2010). De transmissie van *C. burnetii* van dier naar mens lijkt daarom vooral via de lucht te gaan. Controlemaatregelen die geadviseerd worden door de European Food Safety Authority (EFSA) (2010) zijn: 1) vaccinatie; 2) adequaat mestmanagement; 3) aanpassing van bedrijfsgrootte en locatie; 4) manier van schapenscheren; 5) gescheiden ruimte voor het lammeren; 6) verwijdering van risicovol materiaal; 7) geen bezoekers toelaten op het bedrijf.

Bij vaccinatie is het van belang om op het juiste moment te vaccineren (voor besmetting en voor de dracht). Verspreiding via de mest kan worden tegengegaan door de mest te composteren of anderszins te desinfecteren (toevoegen van chemicaliën of verhitten). Uit onderzoek van Roest *et al.*

(2011a) blijkt dat de decimale reductietijd voor *Coxiella burnetii* 26 uur is bij 40°C en 179 seconden bij 60°C. Uitgaande van 10^7 *Coxiella burnetii* bacteriën per gram mest betekent dit dat het aantal *Coxiella* bacteriën tot vrijwel nul is gereduceerd na 182 uur bij 40°C en na 21 minuten bij 60°C. Compostering van geitenmest lijkt daarom een goede methode te zijn om *Coxiella burnetii* af te doden. In voornoemd onderzoek konden de onderzoekers overigens geen levensvatbare *Coxiella burnetii* bacteriën uit geitenmestmonsters isoleren. Verspreiding via de mest kan tevens worden tegen gegaan door de mest niet uit te rijden dicht bij bewoonde gebieden. Aanpassing van de bedrijfsgrootte en de locatie kan de infectiekans en de infectiedruk verkleinen. Grotere bedrijven hebben een grotere kans om besmet te raken met *Coxiella* dan kleinere bedrijven (Roest *et al.*, 2011b). Door grotere afstanden te creëren tussen bijvoorbeeld geitenbedrijven is de kans op transmissie tussen bedrijven kleiner. Ditzelfde geldt voor de afstand tussen (geiten)bedrijven en dorpen/steden. Hoe groter de afstand des te kleiner is de kans op transmissie van de ziekte. Echter, de minimale/optimale afstand tussen bedrijven en tussen bedrijven en dorpen/steden is niet bekend. Een aantal besmettingen met Q-koorts waren gerelateerd aan het scheren van schapen. De wol van schapen kan behoorlijk besmet zijn met *Coxiella* via vervuiling met feces of via vervuiling tijdens het lammeren. Het wordt daarom aanbevolen dat schapenscheerders altijd stofmaskers dragen. Aparte, gescheiden ruimte voor het lammeren is van belang om de kans op verspreiding van *Coxiella* tussen de dieren op het bedrijf te verkleinen. Verder onderzoek naar risicofactoren en methoden om risico's te verminderen is gewenst.

4.3 Verspreiding van ziektekiemen via de lucht

Het is op dit moment nog onduidelijk wat de precieze bijdrage is van kiemverspreiding via de lucht op de transmissie van dierziekten. Voor de meeste ziektekiemen lijkt deze bijdrage vooralsnog gering. In het algemeen wordt aangenomen dat minimaal 75% van de verspreiding tussen bedrijven wordt veroorzaakt door transport. Dit kan transport van een besmet dier zijn, maar ook contact op een markt of verzamelplaats of indirect via een gecontamineerd transportmiddel. Een deel van de transmissies wordt ook veroorzaakt door verplaatsing van materiaal dat ziektekiemen bevat (bijvoorbeeld de laarzen van personen die op een bedrijf zijn geweest met besmette dieren). Verspreiding via de lucht kan wel een belangrijkere rol spelen bij transmissie van ziektekiemen uit een veehouderijsysteem naar mensen die niet op het bedrijf komen, zoals bij Q-koorts. Goede gegevens over de kwantitatieve bijdrage van de aerogene route ontbreken echter. Veel onderzoek, zoals dat is verwoord in dit rapport, is gedaan met kiemen die niet altijd in staat zijn ziekte te veroorzaken bij de mens, echter deze kunnen wel model staan voor de processen die van belang zijn bij verspreiding van ziektekiemen die infecties bij mensen kunnen veroorzaken.

Er is nog weinig bekend over de precieze rol van stof bij de verspreiding van ziektekiemen. Wel is bekend dat een groot deel van de ziektekiemen onderdeel zijn van stofdeeltjes. In het algemeen wordt ook een duidelijke relatie gevonden tussen stofconcentraties en concentraties aan kiemen in de stal. Dit heeft met verschillende zaken te maken. In de eerste plaats kan deze relatie een gevolg zijn van verdunning met verse lucht. In de winter wordt vaak minder geventileerd door lagere temperaturen buiten. Daardoor zijn in de winter de stof- en kiemconcentraties in het algemeen hoger dan in de zomer. In de tweede plaats is dit waarschijnlijk een gevolg van het feit dat één van de belangrijkste bronnen van stof, de mest (Cambra-López *et al.*, 2011), ook de belangrijkste bron is van (ziekte)kiemen. Door het verstoffen van de mestdeeltjes neemt daardoor niet alleen de stofconcentratie toe, maar tevens de concentratie kiemen in de lucht. Mestdeeltjes komen vooral in de lucht terecht wanneer er direct contact is tussen de dieren en de mest. Dit is zeer duidelijk bij strooiselsystemen voor verschillende pluimveecategorieën. Deze hebben de hoogste stofconcentraties en ook de hoogste concentraties kiemen in de lucht van alle onderzochte diercategorieën (Seedorf *et al.*, 1998; Takai *et al.*, 1998). Figuur 2 (par. 2.5) laat zien dat er een duidelijke relatie lijkt te zijn tussen de hoeveelheden stof (in massa) in de verschillende deeltjesgrootteklassen en het aantal kiemen in die klasse. Het lijkt daarom niet aannemelijk dat micro-organismen een 'voorkeur' hebben voor een bepaalde deeltjesgrootte. Een belangrijke bron van micro-organismen, de feces, genereren stofdeeltjes in een brede range van groottes. Micro-organismen lijken zich evenredig, op basis van massa, over de verschillende deeltjesgrootte klassen te verspreiden. De grootte van de stofdeeltjes met kiemen is van belang voor de verspreiding en voor de kans op besmetting. Grote deeltjes (> PM10) zullen relatief snel sedimenteren en de kans op inademing door het ontvangende dier is ook

relatief gering. Wel kunnen grotere deeltjes na depositie in de stal via orale opname in het dier terecht komen en voor een infectie zorgen. Aerogene transmissie lijkt echter het meest voor de hand te liggen met deeltjes die niet veel groter zijn dan 10 µm.

Uit deze literatuurstudie komt naar voren dat voor verschillende ziektekiemen aerogene transmissie een rol kan spelen, aangezien voor verschillende kiemen zodanige halfwaardetijden in de lucht zijn gevonden (minuten tot uren) (Zhao *et al.*, 2011a) dat een verspreiding over aanzienlijke afstanden mogelijk is. Uit onderzoek is echter wel gebleken dat het proces van deeltjesvorming, inclusief het indroogproces en het verdampingsproces (bij vochtige aerosolen), zeer stressvol is voor micro-organismen (Zhao *et al.*, 2012; Hoeksma *et al.*, 2015). Voor het PRRS virus is aangetoond dat dit virus nog steeds infectieus is op een afstand van 9 km van het bedrijf waar het van afkomstig was (Otake *et al.*, 2010). Hierbij moet wel worden aangetekend dat in de meeste proeven om de biologische afbraak (halfwaardetijd) van micro-organismen te bepalen gebruik is gemaakt van verneveling van een vloeistof in een bepaalde ruimte, waarin de monsters worden genomen. Zoals in dit rapport reeds is aangegeven, kunnen micro-organismen zeer gevoelig zijn voor de luchtvochtigheid. In de toekomst zullen daarom ook studies moeten worden gedaan naar de biologische afbraak van micro-organismen in droge aerosolen. Hiermee is een start gemaakt in het onderzoek van Hoeksma *et al.* (2015). Uit dit onderzoek blijkt dat bacteriën sterk in aantallen reduceren tijdens het (kunstmatige) proces van stofvorming.

Voor een goed begrip van de rol van aerogene transmissie is het echter ook van belang om inzicht te verkrijgen in de verspreiding van de kiemen en de concentratie van de kiemen op verschillende afstanden tot het bronbedrijf. Aanvullend, zal tevens inzicht moeten worden verkregen in de dosis – respons relaties voor de relevante (ziekte)kiemen. Variaties in emissies vanuit het bronbedrijf, als gevolg van b.v. het optreden van een infectie of een ander groeistadium van de dieren, zullen tevens meegenomen moeten worden om een goede risico-inschatting te kunnen maken. Bij de verspreidingsberekeningen zal rekening gehouden moeten worden met de deeltjesgrootte-verdeling van de geëmitteerde bio-aerosolen. Grotere deeltjes kunnen meerdere (ziekte)kiemen bevatten, maar zullen sneller neerslaan.

Kiemen kunnen in grote aantallen voorkomen in de lucht en worden daarom steeds in $_{10}\log$ weergegeven. In een uitgebreid onderzoek werden door Seedorf *et al.* (1998) gemiddelde bacterieconcentraties gevonden in pluimvee-, varkens- en rundveestallen van respectievelijk $10^{6,4}$, $10^{5,1}$ en $10^{4,3}$ kve per m^3 lucht. Bij 50% reductie van fijnstof zouden nog steeds respectievelijk $10^{6,1}$, $10^{4,8}$ en $10^{4,0}$ kve per m^3 lucht aanwezig zijn in de stal. Bij emissies van ziektekiemen met een hoge infectiekans bij zeer geringe concentraties zijn waarschijnlijk veel hogere reducties nodig om de kans op transmissie van ziektekiemen via de lucht belangrijk te verkleinen.

5 Conclusies en aanbevelingen

In deze literatuurstudie is de rol van bio-aerosolen in relatie tot de verspreiding van ziektekiemen onderzocht, in het bijzonder in de rundvee-, varkens- en pluimveehouderij. Daarbij is aandacht besteed aan: 1) vorming van bio-aerosolen (het maken en in de lucht komen van deeltjes met (ziekte)kiemen); 2) het emitteren van bio-aerosolen uit de stal. In dit hoofdstuk worden de conclusies geformuleerd en de daaraan gekoppelde aanbevelingen.

5.1 Conclusies

Op basis van deze literatuurstudie kunnen de volgende conclusies worden getrokken betreffende de vorming van bio-aerosolen waar ziektekiemen onderdeel van kunnen zijn:

- Bio-aerosolen zijn kleine druppeltjes of stofdeeltjes die in de lucht zweven. Bio-aerosolen kunnen micro-organismen, waaronder ziektekiemen, bevatten. De vochtige bio-aerosolen komen vooral rechtstreeks in de lucht vanuit de luchtwegen, via niezen, hoesten en/of ademhaling. De droge bio-aerosolen ontstaan door stofvorming vooral van mestdeeltjes, huidschilfers, andere (uitscheidings)producten van de dieren, voer en strooisel.
- Factoren die de stofconcentratie in de stal beïnvloeden zijn vaak ook van invloed op de concentratie (ziekte)kiemen in de stallucht. De concentratie (levensvatbare) kiemen wordt echter niet alleen door fysische factoren, maar tevens door biologische factoren, zoals het al dan niet aanwezig zijn van een infectieziekte, beïnvloed.
- *Staphylococci* en *Streptococci* zijn de meest voorkomende gram-positieve bacteriën in de lucht. De MRSA-bacterie, een bepaald sub-type van de *Staphylococcus aureus*, komt veel voor in stofdeeltjes, vooral in stallen met varkens en vleeskalveren. In hoeverre transmissie via de lucht bijdraagt aan de besmetting van MRSA bij mens en dier is nog onduidelijk. Uit onderzoek is wel gebleken dat de kans op besmetting toeneemt bij een intensiever contact (in tijd en/of via aanraking) tussen mens en dier (of met de omgeving van het dier).
- Het effect van klimaat (temperatuur en relatieve luchtvochtigheid) op de overleving van (ziekte)kiemen in de lucht is afhankelijk van de soort kiem en is daarom niet in algemene zin aan te geven. Vooral bacteriën zijn gevoelig voor luchtvochtigheid en elke soort heeft zijn eigen optimale waarde. Voor temperatuur kan in het algemeen worden gesteld dat hoe hoger de temperatuur des te sneller micro-organismen afsterven in de lucht.

Op basis van deze literatuurstudie kunnen de volgende conclusies worden getrokken betreffende de emissie van bio-aerosolen waar ziektekiemen onderdeel van kunnen zijn:

- Emissie van ziektekiemen is mogelijk, want veel virussen en bacteriën kunnen goed gedurende een aantal minuten of langer in de lucht overleven. Hierbij geldt dat virussen in het algemeen minder gevoelig zijn voor afbraak dan bacteriën en dat gram-positieve bacteriën minder gevoelig zijn voor afbraak in een aerosol dan gram-negatieve bacteriën.
- In het algemeen is er onvoldoende inzicht in de rol van aerosolen (vochtige en droge deeltjes in de lucht) in de aerogene transmissie van ziektekiemen. De volgende aspecten zijn daarbij van belang:
 - Inzicht is nodig in de relatie tussen enerzijds het soort deeltje (deeltjesgrootte, bron) waaraan de kiem is gehecht of waarin de kiem is ingekapseld en klimatologische omstandigheden (temperatuur, luchtvochtigheid, UV-straling) en anderzijds de overlevingskans (halfwaardetijd) van de ziektekiem. Dit bepaalt namelijk de afstand die ze kunnen overbruggen om andere dieren of mensen te infecteren;
 - Inzicht is nodig in de bijdrage van de transmissie via de lucht van ziektekiemen aan de besmetting van dier op dier en/of van dier op mens. Voor een aantal ziektekiemen zijn er sterke aanwijzingen dat de verspreiding via de lucht belangrijk is (o.a. *Coxiella burnetii* de veroorzaker van Q-koorts en het PRRS-virus, veroorzaker van een belangrijke varkensziekte).

-
- Voor ontwikkelen van maatregelen om de overdracht van ziektekiemen via de lucht te voorkomen of te beperken is inzicht nodig in de relatie tussen kiemconcentraties in de lucht en de kans op infectie.

5.2 Aanbevelingen

De conclusies van deze studie geven aan dat meer inzicht nodig is in de processen die optreden bij aerogene transmissie van ziektekiemen. Dit is nodig om de impact van deze infectieroute in de Nederlandse veehouderij goed in te schatten en de effectiviteit van uitstoot beperkende maatregelen maximaal te benutten. Op basis daarvan worden de hierna volgende aanbevelingen gedaan:

Onderzoek de volgende fundamentele aspecten:

- Inzicht in aantallen kiemen en soort kiemen die emitteren uit stallen en in de variaties die optreden gedurende de dag en gedurende het jaar. Hiervoor zal een gevalideerd meetprotocol moeten worden ontwikkeld. Gezien de complexiteit van deze problematiek zal het onderzoek stap voor stap moeten worden opgezet. In eerste instantie is het van belang om te inventariseren welke (ziekte)kiemen er emitteren en van belang zijn bij de verspreiding van (zoönotische) ziekten.
- Wat is het risico dat ziekten via bio-aerosolen worden verspreid van bedrijf naar mensen die in de omgeving verblijven of van bedrijf naar bedrijf. Hiervoor is kennis nodig zijn van emissies van specifieke (ziekte)kiemen (zie vorig punt), de verspreiding en overleving van de kiemen in de omgeving van het bronbedrijf en de dosis response relaties bij mensen of dieren in de buurt van het bronbedrijf.
- Inzicht in het belang van stof en het soort stof (deeltjesgrootte, bron) waaraan de kiem is gehecht of waarin de kiem is ingekapseld op de aerogene transmissie. Via onderzoek naar het voorkomen van kiemen in de verschillende stoffracties in stallen in een praktijksteekproef, gecombineerd met kennis van stofbronnen, kan op dit terrein inzicht worden verbeterd.
- Inzicht in het effect van klimatologische omstandigheden op de overlevingskans van ziektekiemen en daarmee op de afstand die ze kunnen overbruggen om andere bedrijven te infecteren. In een gesloten kleinschalige testopstelling met een aerosolgenerator, waarmee vochtige en droge aerosolen (met kiemen) kunnen worden geproduceerd, kunnen de effecten van verschillende omgevingsfactoren op de overlevingskans en de besmettelijkheid van (ziekte)kiemen nader worden bestudeerd.
- Meer specifiek kunnen in een testopstelling de overlevingskansen van *Coxiella* (Q-koorts) en MRSA bij transmissie door de lucht nader worden onderzocht.

Literatuur

- Aarnink, A. J. A. & Ellen, H. H. (2006). Processen en factoren bij fijn stofemissie in de veehouderij . 36 Lelystad: Animal Sciences Group.
- Aarnink, A. J. A., Mosquera, J., Cambra López, M., Roest, H. I. J., Hol, J. M. G., Van der Hulst, M. C., Zhao, Y., Huis in 't Veld, J. W. H., Gerrits, F. A. & Ogink, N. W. M. (2012). Emissies van stof en ziektekiemen uit melkgeitenstallen. Vol. Rapport 489, 48 Lelystad: Wageningen UR Livestock Research.
- Aarnink, A. J. A., Roelofs, P. F. M. M., Ellen, H. & Gunnink, H. (1999a). Dust sources in animal houses. In *Proceedings Int. Symp. on Dust Control in Animal Production Facilities, 30 May - 2 June.*, 34-40 Aarhus, Denmark: Danish Institute of Agricultural Sciences, Horsens, Denmark.
- Aarnink, A. J. A., Stockhofe-Zurwieden, N. & Wagemans, M. J. M. (2004). Dust in different housing systems for growing-finishing pigs. In *Engineering the Future, AgEng conference, 12-16 September 2004*, session 22 Leuven, Belgium.
- Al Homidan, A., Robertson, J. F. & Petchey, A. M. (1997). Effect of temperature, litter and light intensity on ammonia and dust production and broiler performance. *British poultry science* 38: S5-S17.
- Appleby, M. C. & Hughes, B. O. (1991). Welfare of laying hens in cages and alternative systems: Environmental, physical and behavioural aspects. *World's Poultry Science Journal* 47(02): 109-128.
- Arricau-Bouvery, N., Souriau, A., Bodier, C., Dufour, P., Rousset, E. & Rodolakis, A. (2005). Effect of vaccination with phase I and phase II *Coxiella burnetii* vaccines in pregnant goats. *Vaccine* 23(35): 4392-4402.
- Attwood, P., Brouwer, R., Ruigewaard, P., Versloot, P., De Wit, R., Heederik, D. & Boleij, J. S. M. (1987). A study of the relationship between airborne contaminants and environmental factors in dutch swine confinement buildings. *American Industrial Hygiene Association Journal* 48(8): 745-751.
- Bakutis, B., Monstvilienė, E. & Januskeviciene, G. (2004). Analyses of airborne contamination with bacteria, endotoxins and dust in livestock barns and poultry houses. *Acta Veterinaria Brno* 73(2): 283-289.
- Banhazi, T. M., Seedorf, J., Laffrique, M. & Rutley, D. L. (2008a). Identification of the risk factors for high airborne particle concentrations in broiler buildings using statistical modelling. *Biosystems Engineering* 101(1): 100-110.
- Banhazi, T. M., Seedorf, J., Rutley, D. L. & Pitchford, W. S. (2008b). Identification of risk factors for sub-optimal housing conditions in Australian piggeries: Part 2. Airborne pollutants. *Journal of Agricultural Safety and Health* 14(1): 21-39.
- Barlow, D. F. & Donaldson, A. I. (1973). Comparison of the aerosol stabilities of foot-and-mouth disease virus suspended in cell culture fluid or natural fluids. *Journal of General Virology* 20(3): 311-318.
- Benbough, J. E. (1971). Some factors affecting the survival of airborne viruses. *Journal of General Virology* 10(3): 209-220.
- Cambra-Lopez, M., Aarnink, A. J. A., Zhao, Y., Calvet, S. & Torres, A. G. (2010). Airborne particulate matter from livestock production systems: A review of an air pollution problem. *Environmental Pollution* 158(1): 1-17.
- Cambra-López, M., Hermosilla, T., Lai, H. T., Aarnink, A. J. A. & Ogink, N. W. M. (2011). Particulate matter emitted from livestock houses: On-farm source identification and quantification. *Transactions of the ASABE* 54(2): 629-642.
- Cambra-López, M., Winkel, A., Van Harn, J., Ogink, N. W. M. & Aarnink, A. J. A. (2009). Ionization for reducing particulate matter emissions from poultry houses. *Transaction of the ASABE* 52(5): 1757-1771.
- Chang, C. W., Chung, H., Huang, C. F. & Su, H. J. J. (2001). Exposure of workers to airborne microorganisms in open-air swine houses. *Applied and Environmental Microbiology* 67(1): 155-161.
- Cho, J. G., Dee, S. A., Deen, J., Trincado, C., Fano, E., Jiang, Y., Faaberg, K., Murtaugh, M. P., Guedes, A. & Collins, J. E. (2006). The impact of animal age, bacterial coinfection, and isolate pathogenicity on the shedding of Porcine reproductive and respiratory syndrome virus in aerosols from experimentally infected pigs. *Canadian Journal of Veterinary Research* 70(4): 297-301.
- Clark, P. C. & McQuitty, J. B. (1988). Air quality in farrowing barns. *Canadian Agricultural Engineering* 30(1): 173-178.
- Clark, S., Rylander, R. & Larsson, L. (1983). Airborne bacteria, endotoxin and fungi in dust in poultry and swine confinement buildings. *American Industrial Hygiene Association Journal* 44(7): 537-541.
- Cormier, Y., Tremblay, G., Meriaux, A., Brochu, G. & Lavoie, J. (1990). Airborne microbial contents in two types of swine confinement buildings in Quebec. *American Industrial Hygiene Association Journal* 51(6): 304-309.

- Cox, C. S. (1970). Aerosol survival of *Escherichia coli* B disseminated from the dry state. *Applied and Environmental Microbiology* 19(4): 604-607.
- Cox, C. S. (1971). Aerosol survival of *Pasteurella tularensis* disseminated from the wet and dry states. *Applied and Environmental Microbiology* 21(3): 482-486.
- Cox, C. S. (1989). Airborne bacteria and viruses. *Science Progress* 73(292 Pt 4): 469-499.
- Cox, C. S. & Goldberg, L. J. (1972). Aerosol survival of *Pasteurella tularensis* and the influence of relative humidity. *Applied and Environmental Microbiology* 23(1): 1-3.
- Crook, B., Robertson, J. F., Glass, S. A., Botheroyd, E. M., Lacey, J. & Topping, M. D. (1991). Airborne dust, ammonia, microorganisms, and antigens in pig confinement houses and the respiratory health of exposed farm workers. *American Industrial Hygiene Association Journal* 52(7): 271-279.
- Crump, J. A., Griffin, P. M. & Angulo, F. J. (2002). Bacterial contamination of animal feed and its relationship to human foodborne illness. *Clinical Infectious Diseases* 35: 859-865.
- Curtis, S. E., Drummond, J. G., Grunloh, D. J., Lynch, P. B. & Jensen, A. H. (1975). Relative and qualitative aspects of aerial bacteria and dust in swine houses. *Journal of Animal Science* 41(5): 1512-1520.
- De Deus, N., Seminati, C., Pina, S., Mateu, E., Martín, M. & Segales, J. (2007). Detection of hepatitis E virus in liver, mesenteric lymph node, serum, bile and faeces of naturally infected pigs affected by different pathological conditions. *Veterinary Microbiology* 119(2-4): 105-114.
- De Jong, J. C., Harmsen, M. & Trouwborst, T. (1975). Factors in the inactivation of Encephalomyocarditis virus in aerosols. *Infection and Immunity* 12(1): 29-35.
- De Reu, K., Grijspeerdt, K., Heyndrickx, M., Zoons, J., De Baere, K., Uyttendaele, M., Debevere, J. & Herman, L. (2005). Bacterial eggshell contamination in conventional cages, furnished cages and aviary housing systems for laying hens. *British poultry science* 46(2): 149-155.
- De Rezende, C. L., Mallinson, E. T., Tablante, N. L., Morales, R., Park, A., Carr, L. E. & Joseph, S. W. (2001). Effect of dry litter and airflow in reducing *Salmonella* and *Escherichia coli* populations in the broiler production environment. *The Journal of Applied Poultry Research* 10(3): 245-251.
- Donaldson, A. I. & Ferris, N. P. (1975). The survival of foot-and-mouth disease virus in open air conditions. *Journal of Hygiene* 74(3): 409-416.
- Donham, K. J., Scallan, L. J., Popenorf, W., Treuhaft, M. W. & Roberts, R. C. (1986). Characterization of dusts collected from swine confinement buildings. *American Industrial Hygiene Association Journal* 47(7): 404-410.
- Duan, H., Chai, T., Liu, J., Zhang, X., Qi, C., Gao, J., Wang, Y., Cai, Y., Miao, Z., Yao, M. & Schlenker, G. (2009). Source identification of airborne *Escherichia coli* of swine house surroundings using ERIC-PCR and REP-PCR. *Environmental Research* 109(5): 511-517.
- Duchaine, C., Grimard, Y. & Cormier, Y. (2000). Influence of building maintenance, environmental factors, and seasons on airborne contaminants of swine confinement buildings. *American Industrial Hygiene Association Journal* 61(1): 56-63.
- Duguid, J. P. (1946). The size and the duration of air-carriage of respiratory droplets and droplet-nuclei. *The Journal of Hygiene* 44(6): 471-479.
- Dunklin, E. W. & Puck, T. T. (1948). The lethal effect of relative humidity on air-borne bacteria. *Journal of Experimental Medicine* 87(2): 87-101.
- EFSA (2010). Scientific Opinion on Q fever. *EFSA Journal* 2010; 8 (5):1595.
- Geenen, P. L., Koene, M. G. J., Blaak, H., Havelaar, A. H. & Van de Giessen, A. W. (2010). Risk profile on antimicrobial resistance transmissible from food animals to humans. 118 Bilthoven, The Netherlands: RIVM.
- Gezondheidsraad (2012). Gezondheidsrisico's rond veehouderijen. In *publicatienr. 2012/27* Den Haag: Gezondheidsraad.
- Gloster, J., Williams, P., Doel, C., Esteves, I., Coe, H. & Valarcher, J. (2007). Foot-and-mouth disease - Quantification and size distribution of airborne particles emitted by healthy and infected pigs. *The Veterinary Journal* 174(1): 42-53.
- Gray, J. T. & Fedorka-Cray, P. J. (2001). Survival and Infectivity of *Salmonella* Choleraesuis in Swine Feces. *Journal of Food Protection* 64(7): 945-949.
- Guarino, M., Caroli, A. & Navarotto, P. (1999). Dust concentration and mortality distribution in an enclosed laying house. *Transactions of the ASAE* 42(4): 1127-1133.
- Haeussermann, A., Costa, A., Aerts, J., Hartung, E., Jungbluth, T., Guarino, M. & Berckmans, D. (2008). Development of a dynamic model to predict PM₁₀ emissions from swine houses. *Journal of Environmental Quality* 37(2): 557-564.
- Hald, B., Skovgard, H., Pedersen, K. & Bunkenborg, H. (2008). Influent insects as vectors for *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in Danish broiler houses. *Poultry Science* 87(7): 1428-1434.
- Hald, B., Sommer, H. M. & Skovgard, H. (2007). Use of fly screens to reduce *Campylobacter* spp, introduction in broiler houses. *Emerging Infectious Diseases* 13(12): 1951-1953.
- Harris, G. D., Adams, V. D., Sorensen, D. L. & Curtis, M. S. (1987). Ultraviolet inactivation of selected bacteria and viruses with photoreactivation of the bacteria. *Water Research* 21(6): 687-692.
- Hartung, J. (1992). Emissions of airborne substances from stalls of domestic animals. *Pneumologie* 46(5): 196-202.
- Hazeleger, W. C., Bolder, N. M., Beumer, R. R. & Jacobs-Reitsma, W. F. (2008). Darkling Beetles (*Alphitobius diaperinus*) and Their Larvae as Potential Vectors for the Transfer of *Campylobacter jejuni* and *Salmonella enterica* Serovar Paratyphi B Variant Java between Successive Broiler Flocks. *Applied and Environmental Microbiology* 74(22): 6887-6891.

- He, C., Morawska, L. & Gilbert, D. (2005). Particle deposition rates in residential houses. *Atmospheric Environment* 39(21): 3891-3899.
- Heber, A. J. & Martin, C. R. (1988). Effect of additives on aerodynamic segregation of dust from swine feed. *Transactions of the ASAE* 31(2): 558-563.
- Heber, A. J., Stroik, M., Faubion, J. M. & Willard, L. H. (1988). Size distribution and identification of aerial dust particles in swine finishing buildings. *Transactions of the ASAE* 31(3): 882-887.
- Heederik, D. J. J. & IJzermans, C. J. (2011). Mogelijke effecten van intensieve-veehouderij op de gezondheid van omwonenden: onderzoek naar potentiële blootstelling en gezondheidsproblemen [Possible effects of intensive livestock farming on public health: study on potential exposure and health problems]. 204 Utrecht: Institute for Risk Assessment Sciences, Utrecht University.
- Hermann, J. R., Brockmeier, S. L., Yoon, K. J. & Zimmerman, J. J. (2008). Detection of respiratory pathogens in air samples from acutely infected pigs. *Canadian Journal of Veterinary Research* 72(4): 367-370.
- Hijnen, W. A. M., Beerendonk, E. F. & Medema, G. J. (2006). Inactivation credit of UV radiation for viruses, bacteria and protozoan (oo)cysts in water: A review. *Water Research* 40(1): 3-22.
- Himathongkham, S., Bahari, S., Riemann, H. & Cliver, D. (1999). Survival of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhimurium* in cow manure and cow manure slurry. *FEMS Microbiology Letters* 178(2): 251-257.
- Hinz, T. & Linke, S. (1998). A comprehensive experimental study of aerial pollutants in and emissions from livestock buildings. part 2: Results. *Journal of agricultural engineering research* 70(1): 119-129.
- Hoeksma, P., Aarnink, A. J. A. & Ogink, N. W. M. (2015). Effect of temperature and relative humidity on the survival of airborne bacteria. Wageningen: Wageningen UR Livestock Research, Rapport, in druk.
- Hofschreuder, P., Aarnink, A. J. A., Zhao, Y. & Ogink, N. W. M. (2007). Measurement protocol for determining fine dust emission factors of animal housing systems. In *Proceedings of Dustconf 2007, How to Improve Air Quality*, 89 Maastricht, the Netherlands.
- Honey, L. F. & McQuitty, J. B. (1979). Some physical factors affecting dust concentrations in a pig facility. *Canadian Agricultural Engineering* 21(1): 9-14.
- Ijaz, M. K., Karim, Y. G., Sattar, S. A. & Johnson-Lussenburg, C. M. (1987). Development of methods to study the survival of airborne viruses. *Journal of Virological Methods* 18(2-3): 87-106.
- Ijaz, M. K., Sattar, S. A., Johnson-Lussenburg, C. M. & Springthorpe, V. S. (1985). Comparison of the airborne survival of calf rotavirus and poliovirus type 1 (Sabin) aerosolized as a mixture. *Applied and Environmental Microbiology* 49(2): 289-293.
- Kim, K. Y., Ko, H. J., Kim, H. T., Kim, C. N. & Kim, Y. S. (2008a). Assessment of airborne bacteria and fungi in pig buildings in Korea. *Biosystems Engineering* 99(4): 565-572.
- Kim, K. Y., Ko, H. J., Kim, H. T., Kim, C. N., Kim, Y. S. & Roh, Y. M. (2008b). Effect of manual feeding on the level of farmer's exposure to airborne contaminants in the confinement nursery pig house. *Industrial Health* 46(2): 138-143.
- Kim, K. Y., Ko, H. J., Kim, H. T., Kim, Y. S., Roh, Y. M. & Kim, C. N. (2007). Effect of ventilation rate on gradient of aerial contaminants in the confinement pig building. *Environmental Research* 103(3): 352-357.
- Kim, K. Y., Ko, H. J., Lee, K. J., Park, J. B. & Kim, C. N. (2005). Temporal and spatial distributions of aerial contaminants in an enclosed pig building in winter. *Environmental Research* 99(2): 150-157.
- Lai, A. C. K. (2002). Particle deposition indoors: a review. *Indoor Air* 12(4): 211-214.
- Lai, A. C. K. (2006). Particle Deposition and Decay in a Chamber and the Implications to Exposure Assessment. *Water, Air, & Soil Pollution* 175(1): 323-334.
- Lai, H. T. L., Aarnink, A. J. A., Cambra-López, M., Huynh, T. T. T., Parmentier, H. K. & Groot Koerkamp, P. W. G. (2014). Size distribution of airborne particles in animal houses. *Agric Eng Int: CIGR Journal* 16(3): 28 - 42.
- Letellier, A., Messier, S., Paré, J., Ménard, J. & Quessy, S. (1999). Distribution of *Salmonella* in swine herds in Québec. *Veterinary Microbiology* 67(4): 299-306.
- Lighthart, B. (1973). Survival of airborne bacteria in a high urban concentration of carbon monoxide. *Applied and Environmental Microbiology* 25(1): 86-91.
- Lu, J., Sanchez, S., Hofacre, C., Maurer, J. J., Harmon, B. G. & Lee, M. D. (2003). Evaluation of broiler litter with reference to the microbial composition as assessed by using 16S rRNA and functional gene markers. *Applied and Environmental Microbiology* 69(2): 901-908.
- Maassen, C. B. M., Van Duijkeren, E., Van Duynhoven, Y. T. H. P., Dusseldorp, A., Geenen, P., De Koeijer, A. A., Koopmans, M. P. G., Loos, F., Jacobs-Reitsma, W. F., De Jonge, R. & Van de Giessen, A. W. (2012). Infectierisico's van de veehouderij voor omwonenden. 65 Bilthoven, The Netherlands: RIVM.
- Maciorowski, K. G., Herrera, P., Jones, F. T., Pillai, S. D. & Ricke, S. C. (2007). Effects on poultry and livestock of feed contamination with bacteria and fungi. *Animal Feed Science and Technology* 133(1-2): 109-136.
- Madelin, T. M. & Wathes, C. M. (1989). Air hygiene in a broiler house: comparison of deep litter with raised netting floors. *British poultry science* 30(1): 23-37.
- Martin, W. T., Zhang, Y. H., Willson, P., Archer, T. P., Kinahan, C. & Barber, E. M. (1996). Bacterial and fungal flora of dust deposits in a pig building. *Occupational and Environmental Medicine* 53(7): 484-487.

- Matkovic, K., Vucemilo, M., Vinkovic, B., Seol, B., Pavicic, Z. & Matkovic, S. (2007). Qualitative structure of airborne bacteria and fungi in dairy barn and nearby environment. *Czech Journal of Animal Science* 52(8): 249-254.
- Maus, R., Goppelsröder, A. & Umhauer, H. (2001). Survival of bacterial and mold spores in air filter media. *Atmospheric Environment* 35(1): 105-113.
- McCaul, T. F. & Williams, J. C. (1981). Developmental cycle of *Coxiella burnetii* - Structure and morphogenesis of vegetative and sporogenic differentiations. *Journal of Bacteriology* 147(3): 1063-1076.
- McChesney, D. G., Kaplan, G. & Gardner, P. (1995). FDA survey determines *Salmonella* contamination. *Feedstuffs* 67.
- McGee, P., Bolton, D. J., Sheridan, J. J., Earley, B. & Leonard, N. (2001). The survival of *Escherichia coli* O157:H7 in slurry from cattle fed different diets. *Letters in Applied Microbiology* 32(3): 152-155.
- Milling, A., Kehr, R., Wulf, A. & Smalla, K. (2005). Survival of bacteria on wood and plastic particles: Dependence on wood species and environmental conditions. *Holzforschung* 59(1): 72-81.
- Mitchell, B. W. & Waltman, W. D. (2003). Reducing airborne pathogens and dust in commercial hatching cabinets with an electrostatic space charge system. *Avian Diseases* 47(2): 247-253.
- Moe, K. & Harper, G. J. (1983). The effect of relative humidity and temperature on the survival of bovine rotavirus in aerosol. *Archives of Virology* 76(3): 211-216.
- Muller, W. & Wieser, P. (1987). Dust and microbial emissions from animal production. In *Animal production and environmental health*, 47-89 (Ed D. Strauch). Elsevier.
- Nicks, B., Canart, B. & Vandenheede, M. (1993). Temperature, air humidity and air pollution levels in farrowing or weaner pig houses. *Pig News and Information* 14(2): 77-78.
- Omisakin, F., MacRae, M., Ogden, I. D. & Strachan, N. J. C. (2003). Concentration and prevalence of *Escherichia coli* O157 in cattle feces at slaughter. *Applied and Environmental Microbiology* 69(5): 2444-2447.
- Otake, S., Dee, S., Corzo, C., Oliveira, S. & Deen, J. (2010). Long-distance airborne transport of infectious PRRSV and *Mycoplasma hyopneumoniae* from a swine population infected with multiple viral variants. *Veterinary Microbiology* 145(3-4): 198-208.
- Oyston, P. C. F. & Davies, C. (2011). Q fever: the neglected biothreat agent. *Journal of Medical Microbiology* 60(1): 9-21.
- Pavicic, Z., Balenovic, T., Valpotic, H., Tofant, A., Popovic, M., Balenovic, M., Matkovic, K. & Valpotic, I. (2006). Influence of porcine housing density on species diversity and number of airborne microorganisms at fattening facilities. *Acta Veterinaria (Brno)* 75(4): 533-540.
- Pedersen, S. & Pedersen, C. B. (1995). Animal activity measured by infrared detectors. *Journal of agricultural engineering research* 61(4): 239-246.
- Pell, A. N. (1997). Manure and Microbes: Public and Animal Health Problem? *Journal of Dairy Science* 80(10): 2673-2681.
- Predicala, B. Z., Maghirang, R. G., Jerez, S. B., Urban, J. E. & Goodband, R. D. (2001). Dust and bioaerosol concentrations in two swine-finishing buildings in Kansas. *Transactions of the ASAE* 44(5): 1291-1298.
- Quarles, C. L., Gentry, R. F. & Bressler, G. O. (1970). Bacterial contamination in poultry houses and its relationship to egg hatchability. *Poultry Science* 49(1): 60-66.
- Radon, K., Danuser, B., Iversen, M., Monso, E., Weber, C., Hartung, J., Donham, K. J., Palmgren, U. & Nowak, D. (2002). Air contaminants in different European farming environments. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 9(1): 41-48.
- Roelofs, P. F. M. M. (1996). Desinfectie bedrijfsvreemd materiaal door blootstelling aan UV-C. *Proefverslag nr. P 1.166, Praktijkonderzoek Varkenshouderij*.
- Roest, H.-J., Dinkla, A., Van Rotterdam, B., De Bruin, A., Dercksen, D. & Vellema, P. (2011a). Overleving van *Coxiella burnetii* in geitenmest; Eindrapportage. 23 Lelystad: Centraal Veterinair Instituut.
- Roest, H. I. J., Tilburg, J., Van der Hoek, W., Vellema, P., Van Zijderveld, F. G., Klaassen, C. H. W. & Raoult, D. (2011b). The Q fever epidemic in The Netherlands : history, onset, response and reflection. *Epidemiology and Infection* 139(1): 1-12.
- Saleh, M., Seedorf, J. & Hartung, J. (2005). Influence of animal age and season on bio-aerosol concentrations in a broiler house. In *ISAH 2005*, Warsaw, Poland.
- Sauter, E. E. A., Petersen, C. C. F., Steele, E. E. E., Parkinson, J. J. F., Dixon, J. J. E. & Stroh, R. R. C. (1981). The airborne microflora of poultry houses. *Poultry Science* 60(3): 569.
- Schimmer, B., Ter Schegget, R., Wegdam, M., Zuchner, L., de Bruin, A., Schneeberger, P. M., Veenstra, T., Vellema, P. & van der Hoek, W. (2010). The use of a geographic information system to identify a dairy goat farm as the most likely source of an urban Q-fever outbreak. *Bmc Infectious Diseases* 10.
- Seedorf, J., Hartung, J., Schroder, M., Linkert, K. H., Phillips, V. R., Holden, M. R., Sneath, R. W., Short, J. L., White, R. P., Pedersen, S., Takai, H., Johnsen, J. O., Metz, J. H. M., Groot Koerkamp, P. W. G., Uenk, G. H. & Wathes, C. M. (1998). Concentrations and emissions of airborne endotoxins and microorganisms in livestock buildings in Northern Europe. *Journal of agricultural engineering research* 70(1): 97-109.
- Simmons, J. D. & Lott, B. D. (1996). Evaporative cooling performance resulting from changes in water temperature. *Applied Engineering in Agriculture* 12(4): 497-500.
- Songer, J. R. (1967). Influence of relative humidity on the survival of some airborne viruses. *Applied and Environmental Microbiology* 15(1): 35-42.

- Spradbrow, P. B., Samuel, J. L. & Ibrahim, A. L. (1988). Serological response of chickens to oral vaccination with newcastle disease virus. *Veterinary Microbiology* 16(3): 255-262.
- Ssematimba, A., Hagenaars, T. J. & de Jong, M. C. M. (2012). Modelling the Wind-Borne Spread of Highly Pathogenic Avian Influenza Virus between Farms. *PLoS One* 7(2).
- Sun, W. & Ji, J. (2007). Transport of droplet expelled by coughing in ventilated rooms. *Indoor and Built Environment* 16(6): 493-504.
- Takai, H., Pedersen, S., Johnsen, J. O., Metz, J. H. M., Koerkamp, P., Uenk, G. H., Phillips, V. R., Holden, M. R., Sneath, R. W., Short, J. L., White, R. P., Hartung, J., Seedorf, J., Schroder, M., Linkert, K. H. & Wathes, C. M. (1998). Concentrations and emissions of airborne dust in livestock buildings in Northern Europe. *Journal of agricultural engineering research* 70(1): 59-77.
- Thatcher, T. L., Lai, A. C. K., Moreno-Jackson, R., Sextro, R. G. & Nazaroff, W. W. (2002). Effects of room furnishings and air speed on particle deposition rates indoors. *Atmospheric Environment* 36(11): 1811-1819.
- Theunissen, H. J., Lemmens-den Toom, N. A., Burggraaf, A., Stolz, E. & Michel, M. F. (1993). Influence of temperature and relative humidity on the survival of *Chlamydia pneumoniae* in aerosols. *Applied and Environmental Microbiology* 59(8): 2589-2593.
- Tong, Y. & Lighthart, B. (1997). Solar radiation has a lethal effect on natural populations of culturable outdoor atmospheric bacteria. *Atmospheric Environment* 31(6): 897-900.
- van Cleef, B. A., Verkade, E. J. M., Wulf, M. W., Buiting, A. G., Voss, A., Huijsdens, X. W., van Pelt, W., Mulders, M. N. & Kluytmans, J. A. (2010). Prevalence of Livestock-Associated MRSA in Communities with High Pig-Densities in The Netherlands. *PLoS One* 5(2): 1-5.
- Van Dooren, H. J. C. & Galama, P. J. (2009). Internationale verkenning van ervaringen met vrijloopstallen. 25: Lelystad : Animal Sciences Group, Rapport 244.
- Van Oirschot, J. T. (1979). Experimental production of congenital persistent swine fever infections: I. Clinical, pathological and virological observations. *Veterinary Microbiology* 4(2): 117-132.
- Van Wicklen, G. L. & Allison, J. M. (1989). Aerosol and ammonia concentrations in broiler houses using mechanical and natural ventilation. *Journal of agricultural engineering research* 42(2): 97-109.
- Vittal, B. & Rasool, S. (1995). Enumeration of airborne molds in some indoor environments of Madras city (India) by cultural and non-cultural volumetric samplers. *Aerobiologia* 11(3): 201-204.
- Vucemilo, M., Matkovic, K., Vinkovic, B., Jaksic, S., Granic, K. & Mas, M. (2007). The effect of animal age on air pollutant concentration in a broiler house. *Czech Journal of Animal Science* 52(6): 170-174.
- Wagenaar, J. A. & Van de Giessen, A. W. (2009). Veegerelateerde MRSA: epidemiologie in dierlijke productieketens, transmissie naar de mens en karakterisatie van de kloon.: RIVM-rapport 330224001.
- Webb, S. J. (1963). The effect of relative humidity and light on air-dried organisms. *Journal of Applied Microbiology* 26(3): 307-313.
- Webster, R. G., Yakhno, M., Hinshaw, V. S., Bean, W. J. & Copal M. K. (1978). Intestinal influenza: Replication and characterization of influenza viruses in ducks. *Virology* 84(2): 268-278.
- Wells, W. F. (1934). On air-borne infection: study II. droplets and droplet nuclei. *American Journal of Epidemiology* 20(3): 611-618.
- Whyte, R. T. (1993). Aerial pollutants and the health of poultry farmers. *World's Poultry Science Journal* 49(2): 139-156.
- Wilson, S. C., Morrow-Tesch, J., Straus, D. C., Cooley, J. D., Wong, W. C., Mitlohner, F. M. & McGlone, J. J. (2002). Airborne Microbial Flora in a Cattle Feedlot. *Applied and Environmental Microbiology* 68(7): 3238-3242.
- Wright, D. N., Bailey, G. D. & Hatch, M. T. (1968). Survival of airborne Mycoplasma as affected by relative humidity. *Journal of Bacteriology* 95(1): 251-252.
- Wylie, L. M., Robertson, G. W., MacLeod, M. G. & Hocking, P. M. (2001). Effects of ambient temperature and restricted feeding on the growth of feathers in growing turkeys. *British poultry science* 42(4): 449-455.
- Yoder, M. F. & Van Wicklen, G. L. (1988). Respirable aerosol generation by broiler chicken. *Transactions of the ASAE* 31: 1510-1517.
- Yoon, I. J., Joo, H., Christianson, W. T., Morrison, R. B. & Dial, G. D. (1993). Persistent and contact infection in nursery pigs experimentally infected with porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus. *Journal of Swine Health and Production* 1(4): 5-8.
- Zeitler, M. H., Konig, M. & Groth, W. (1987). Effect of the type of feed (meal, pellets or fluid) and season on the concentration and particle size of dust particles in pig houses. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift* 94(7): 420-424.
- Zhang, Y. H. (2004). *Indoor air quality engineering* Boca Raton, Florida: CRC Press.
- Zhao, Y., Aarnink, A. J. A., De Jong, M. C. M. & Groot Koerkamp, P. W. G. (2011a). Airborne microorganisms from livestock production systems and their relation to dust. *Submitted to Critical Reviews in Environmental Science and Technology*.
- Zhao, Y., Aarnink, A. J. A., Dijkman, R., Fabri, T., de Jong, M. C. M. & Koerkamp, P. (2012). Effects of temperature, relative humidity, absolute humidity, and evaporation potential on survival of airborne gumboro vaccine virus. *Applied and Environmental Microbiology* 78(4): 1048-1054.
- Zhao, Y., Aarnink, A. J. A., Doornenbal, P., Huynh, T. T. T., Groot Koerkamp, P. W. G., De Jong, M. C. M. & Landman, W. J. (2010a). Investigation of the efficiencies of bioaerosol samplers for collecting aerosolized bacteria using a fluorescent tracer. I: Effects of non-sampling processes on bacterial culturability. *Aerosol Science and Technology*. In-press.

-
- Zhao, Y., Aarnink, A. J. A., Groot Koerkamp, P. W. G., Hagenaars, T. J., Katsma, W. E. A. & De Jong, M. C. M. (2011b). Detection of airborne *Campylobacter* with three bioaerosol samplers for alarming bacteria transmission in broilers. *Biological Engineering* 3(4): 177-186.
- Zhao, Y., Aarnink, A. J. A., Groot Koerkamp, P. W. G., Ogink, N. W. M. & De Jong, M. C. M. (2008). Removal efficiency of dust and bacteria by multi-stage air scrubbers in a pig house. In *The Eighth International Symposium of Livestock Environment*, 139-145 Iguassu Falls, Brasil.
- Zhao, Y., Aarnink, A. J. A., Hofschreuder, P. & Groot Koerkamp, P. W. G. (2009). Evaluation of an impaction and a cyclone pre-separator for sampling high PM₁₀ and PM_{2.5} concentrations in livestock houses. *Journal of Aerosol Science* 40(10): 868-878.
- Zhao, Y., Aarnink, A. J. A. & Landman, W. J. M. (2010b). Airborne micro-organisms and their relation with dust in animal houses.
- Zhao, Y., Aarnink, A. J. A., Ogink, N. W. M., De Jong, M. C. M. & Groot Koerkamp, P. W. G. (2011c). Effectiveness of multi-stage scrubbers on reducing emissions of air pollutants from pig houses. *Transactions of the ASABE* 54(1): 285-293.
- Zucker, B. A., Trojan, S. & Muller, W. (2000). Airborne gram-negative bacterial flora in animal houses. *Journal of Veterinary Medicine, Series B* 47(1): 37-46.


Wageningen UR Livestock Research
Postbus 338
6700 AH Wageningen
T 0317 48 39 53
info.livestockresearch@wur.nl
www.wageningenUR.nl/livestockresearch

Livestock Research Rapport 829



Wageningen UR Livestock Research ontwikkelt kennis voor een zorgvuldige en renderende veehouderij, vertaalt deze naar praktijkgerichte oplossingen en innovaties, en zorgt voor doorstroming van deze kennis. Onze wetenschappelijke kennis op het gebied van veehouderijsystemen en van voeding, genetica, welzijn en milieu-impact van landbouwhuisdieren integreren we, samen met onze klanten, tot veehouderijconcepten voor de 21e eeuw.

De missie van Wageningen UR (University & Research centre) is 'To explore the potential of nature to improve the quality of life'. Binnen Wageningen UR bundelen 9 gespecialiseerde onderzoeksinstituten van stichting DLO en Wageningen University hun krachten om bij te dragen aan de oplossing van belangrijke vragen in het domein van gezonde voeding en leefomgeving. Met ongeveer 30 vestigingen, 6.000 medewerkers en 9.000 studenten behoort Wageningen UR wereldwijd tot de aansprekende kennisinstellingen binnen haar domein. De integrale benadering van de vraagstukken en de samenwerking tussen verschillende disciplines vormen het hart van de unieke Wageningen aanpak.



To explore
the potential
of nature to
improve the
quality of life

Wageningen UR Livestock Research
Postbus 338
6700 AH Wageningen
T 0317 480 10 77
E info.livestockresearch@wur.nl
www.wageningenUR.nl/livestockresearch

Livestock Research Rapport 829



Wageningen UR Livestock Research ontwikkelt kennis voor een zorgvuldige en renderende veehouderij, vertaalt deze naar praktijkgerichte oplossingen en innovaties, en zorgt voor doorstroming van deze kennis. Onze wetenschappelijke kennis op het gebied van veehouderijsystemen en van voeding, genetica, welzijn en milieu-impact van landbouwhuisdieren integreren we, samen met onze klanten, tot veehouderijconcepten voor de 21e eeuw.

De missie van Wageningen UR (University & Research centre) is 'To explore the potential of nature to improve the quality of life'. Binnen Wageningen UR bundelen 9 gespecialiseerde onderzoeksinstituten van stichting DLO en Wageningen University hun krachten om bij te dragen aan de oplossing van belangrijke vragen in het domein van gezonde voeding en leefomgeving. Met ongeveer 30 vestigingen, 6.000 medewerkers en 9.000 studenten behoort Wageningen UR wereldwijd tot de aansprekende kennisinstellingen binnen haar domein. De integrale benadering van de vraagstukken en de samenwerking tussen verschillende disciplines vormen het hart van de unieke Wageningen aanpak.
